

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung
Vorstand: Prof. Dr. M. H. Erhard

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. M. H. Erhard

**Langzeituntersuchungen zum potentiellen Einfluss
elektromagnetischer Strahlung (GSM, UMTS)
auf das Stressgeschehen der Ratte**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Judith Theresa Friederike Schreiner
aus Burglengenfeld

München 2009

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Erhard
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Stangassinger

Tag der Promotion: 17.Juli 2009

Für meine Eltern

Τῆς δ' ἀρετῆς ἰδρῶτα θεοὶ προπάροιθεν ἔθηκαν /
(ἀθάνατοι· μακρὸς δὲ καὶ ὄρθιος οἶμος ἐς αὐτήν)

Hesiod (um 700 v. Chr.)

(Übersetzung: Vor die Vollendung haben die Götter den Schweiß gesetzt, die
Unsterblichen, und lang und steil ist der Weg zu ihr.)

Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Das Versuchstier Ratte	2
2.	Gesetzliche Grundlagen und Empfehlungen	3
3.	Strahlung und elektromagnetische Felder	4
3.1	Physikalische Grundlage	4
3.2	Mobilfunk allgemein	8
3.3	GSM	9
3.4	UMTS	10
3.5	Grenzwerte	12
3.6	Einflüsse hochfrequenter-elektromagnetischer Felder auf biologische Parameter	14
4.	Stressgeschehen allgemein und Stressparameter bei der Ratte	18
4.1	Allgemeines zum Stressgeschehen	18
4.2	Stressparameter bei der Ratte	20
5.	Kortikosteron	21
5.1	Synthese und Metabolisierung des Kortikosterons	21
5.2	Probenmaterialien zum Kortikosteronnachweis und Entnahmetechniken	22
5.3	Nachweismethoden des Kortikosterons im Blut und Referenzwerte	25
5.4	Chronische Stressbelastung und ACTH-Test	26
5.5	Endogene Einflüsse auf die Kortikosteronkonzentration und weitere biologische Parameter	28
5.5.1	Alter	28
5.5.2	Erkrankungen anderer Organsysteme	28
5.5.3	Zyklusstand und Geschlecht	28
5.5.4	Spezies	29
5.6	Exogene Einflüsse auf die Kortikosteronkonzentration und weitere biologische Parameter	29
5.6.1	Zirkadiane, ultradiane und jahreszeitabhängige Rhythmik der Kortikosteronsekretion	29
5.6.2	Haltung und Fütterung	30
5.6.3	Handling und Routinemaßnahmen	30
5.6.4	Stress	31
5.6.5	Anästhesie	31
5.6.6	Blutprobenentnahme und Blutentnahmevolumen	33
5.7	Die Area under the curve	33
III.	TIERE, MATERIAL UND METHODEN	35
1.	Allgemeines	35
2.	Vorversuch	36
2.1	Zielsetzung	36
2.2	Versuchstiere	36
2.3	Haltungsbedingungen	37

2.3.1	Käfige und Belegungsdichte	37
2.3.2	Futter und Einstreu	37
2.3.3	Klima	37
2.3.4	Lichtprogramm	38
2.3.5	Pflege und Gesundheit	38
2.4	Versuchsdurchführung	38
2.4.1	Versuchsvorbereitung und Handling	38
2.4.2	Versuchszeitplan	39
2.4.3	Gewinnung der Blutproben und ACTH-Applikation	39
2.4.4	Entnahmezeitpunkte der Blutproben	39
2.4.5	Blutprobenverarbeitung und Lagerung der Blutproben	39
2.5	Probenmessung des Kortikosterons	40
2.5.1	Fremdanalyse	40
2.5.2	Eigene Analyse	40
2.6	Statistische Auswertung	40
3.	Hauptversuch	41
3.1	Versuchstiere	41
3.2	Haltungsbedingungen	44
3.2.1	Käfige und Belegungsdichte	44
3.2.2	Futter und Einstreu	44
3.2.3	Klima	45
3.2.4	Lichtprogramm	45
3.2.5	Pflege und Gesundheit	46
3.3	Versuchsdurchführung	46
3.3.1	Daten und Belegung der Hochfrequenz-Expositionskammern	46
3.3.2	Expositionsdaten	49
3.3.3	Vorangegangene Untersuchungen	50
3.3.4	Versuchszeitplan	51
3.3.5	Gewinnung der Blutproben und ACTH-Applikation	51
3.3.6	Entnahmezeitpunkte der Blutproben	53
3.3.7	Blutprobenverarbeitung und Probenmessung mittels ELISA	54
3.3.8	Herstellung des Serumpools	54
3.4	Probenmessung des Kortikosterons mittels ELISA	55
3.4.1	Prinzip des ELISAs	55
3.4.2	Durchführung des ELISAs	55
3.5	Statistische Auswertung	57
IV.	ERGEBNISSE	59
1.	Vorversuch	59
2.	Hauptversuch	66
2.1	Definition der im Ergebnisteil verwendeten Begriffe und Abkürzungen	66
2.2	Analyse der AUC	66
2.2.1	Generation F0a	66
2.2.2	Generation F0b	69
2.2.3	Generation F2	72
2.2.4	Vergleich der Generationen	77
2.2.5	Deskriptive Statistik der AUC	79
2.3	Basalkonzentration	80
2.3.1	Allgemeines	80
2.3.2	Generation F0a	80
2.3.3	Generation F0b	81
2.3.4	Generation F2	83

2.3.5	Vergleich der Generationen	85
2.4	Blutentnahmedauer	87
2.4.1	Allgemeines	87
2.4.2	Generation F0a	87
2.4.3	Generation F0b	88
2.4.4	Generation F2	90
2.4.5	Weitere Blutentnahmezeitpunkte und Vergleich der Generationen	91
2.5	Analyse der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert	96
2.5.1	Allgemeines	96
2.5.2	Generation F0a	96
2.5.3	Generation F0b	99
2.5.4	Generation F2	102
2.5.5	Vergleich der Generationen	105
2.6	Deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration	107
2.6.1	Generation F0a	107
2.6.2	Generation F0b	110
2.6.3	Generation F2	112
2.6.4	Vergleich der Generationen	113
3.	Zusammenfassung der Ergebnisse des Hauptversuches	115
V.	DISKUSSION	117
1.	Allgemeines	117
2.	Diskussion des Vorversuches	117
3.	Diskussion des Hauptversuches	119
3.1	Diskussion der Methoden	119
3.1.1	Tierauswahl	119
3.1.2	Haltungsbedingungen und Fütterung	120
3.1.3	Handling und Routinemaßnahmen	120
3.1.4	Stressparameter bei der Ratte	121
3.1.5	Gewinnung der Blutproben	123
3.1.6	ACTH-Applikation und ACTH-Test	126
3.1.7	Nachweismethoden des Kortikosterons im Blut und Referenzwerte	127
3.1.8	Entnahmezeitpunkte der Blutproben	128
3.1.9	Probenmessung des Kortikosterons mittels ELISA und Durchführung des ELISAs	129
3.1.10	Statistische Auswertung	129
3.2	Diskussion der Ergebnisse	130
3.2.1	Analyse der AUC	130
3.2.2	Basalkonzentration	132
3.2.3	Blutentnahmedauer	134
3.2.4	Analyse der Differenz der Kortikosteronkonzentration zwischen Maximal- und Basalwert	135
3.2.5	Deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration	136
3.3	Gesamtdiskussion	137
3.4	Schlussfolgerungen	140
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	143
VII.	SUMMARY	145

VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	147
	CURRICULUM VITAE	
	DANKSAGUNG	

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Grenzwerte für Hochfrequenzanlagen gemäß 26. BImSchV	13
Tab. 2: Basisgrenzwerte für die Exposition der Bevölkerung	13
Tab. 3: Anzahl der Versuchstiere je Versuchsgruppe	37
Tab. 4: Zeiträume der durchgeführten ACTH-Tests.....	39
Tab. 5: Körpergewicht in Gramm zum Versuchszeitpunkt angegeben als MW \pm SD	43
Tab. 6: Anzahl der Versuchstiere je Gruppe und je Expositionskammer	43
Tab. 7: Inhaltsstoffe altromin 1324 und altromin 1314	44
Tab. 8: Expositionszeiträume	50
Tab. 9: Anzahl der Tiere der Generation F0a mit vorangegangenem Verhaltenstest.....	50
Tab. 10: Anzahl der Tiere der Generation F0a, die als Zuchttiere eingesetzt wurden	51
Tab. 11: Zeiträume der durchgeführten ACTH-Tests.....	51
Tab. 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration (in ng/ml) zu den unterschiedlichen Blutentnahmezeitpunkten	60
Tab. 13: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC	67
Tab. 14: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC unter Einbeziehung des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt und der Exposition-Gewicht-Interaktion	67
Tab. 15: Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima des Gewichtes in der Generation F0a	69
Tab. 16: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC	70
Tab. 17: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	70
Tab. 18: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC unter Einbeziehung des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt und der Exposition-Gewicht-Interaktion	70
Tab. 19: Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima des Gewichtes in der Generation F0b	72
Tab. 20: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC	73
Tab. 21: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC unter Einbeziehung des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt und der Exposition-Gewicht-Interaktion	73
Tab. 22: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests unter Berücksichtigung der Exposition-Gewicht-Interaktion.....	74
Tab. 23: Übersicht über die erwartete Größe der AUC in der Gruppe 2 der Expositionsgruppen in Abhängigkeit vom Einflussfaktor „Gewicht“ (Gruppe 1: alle Werte um 4989,8 niedriger als in Gruppe 2)	75
Tab. 24: Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima des Ge- wichtes in der Generation F2	77
Tab. 25: Ergebnis der F-Tests unter Berücksichtigung der Exposition-Generation-Inter- aktion auf die AUC	77
Tab. 26: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	78
Tab. 27: Überblick über die erwartete Größe der AUC in der Gruppe 2 der Expositionsgruppen in Abhängigkeit von der Generation (Gruppe 1: alle Werte um jeweils 208,599 niedriger als in Gruppe 2)	78
Tab. 28: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen absoluten Größe der AUC der GSM-exponierten Tiere	79
Tab. 29: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen absoluten Größe der AUC der UMTS-exponierten Tiere	80
Tab. 30: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen absoluten Größe der AUC der SHAM-exponierten Tiere	80
Tab. 31: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0a)	81
Tab. 32: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0b)	82
Tab. 33: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	82
Tab. 34: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F2).....	84
Tab. 35: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	84

Tab. 36: Deskriptive Statistik der expositionsart- und generationenbezogenen Basalkonzentration in ng/ml	85
Tab. 37: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0a)	88
Tab. 38: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0b)	89
Tab. 39: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	89
Tab. 40: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F2).....	90
Tab. 41: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	90
Tab. 42: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Blutentnahmedauer der GSM-exponierten Tiere	91
Tab. 43: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen Blutentnahmedauer der UMTS-exponierten Tiere	92
Tab. 44: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen Blutentnahmedauer der SHAM-exponierten Tiere	92
Tab. 45: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf Diff_Cort_Max_Basal	96
Tab. 46: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	96
Tab. 47: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf Diff_Cort_Max_Basal	99
Tab. 48: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	99
Tab. 49: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf Diff_Cort_Max_Basal	102
Tab. 50: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests	102
Tab. 51: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen absoluten Größe der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und zum Zeitpunkt t0 der GSM-exponierten Tiere	105
Tab. 52: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen absoluten Größe der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und zum Zeitpunkt t0 der UMTS-exponierten Tiere.....	105
Tab. 53: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen absoluten Größe der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und zum Zeitpunkt t0 der SHAM-exponierten Tiere	106
Tab. 54: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax der GSM-exponierten Tiere	106
Tab. 55: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax der UMTS-exponierten Tiere.....	106
Tab. 56: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax der SHAM-exponierten Tiere.....	107
Tab. 57: Deskriptive Statistik über die Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in den unterschiedlichen Generationen.....	108
Tab. 58: Absolute Anzahl der Tiere je Generation, Exposition und Gruppe mit der Maximalkonzentration zum jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt	109

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung des Stressgeschehens	19
Abb. 2: Darstellung der AUC am Beispiel des Verlaufes der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration in ng/ml unter Isofluran-Narkose (n = 10) im Vorversuch	41
Abb. 3: Schematische Seitenansicht der Expositions-kammern	47
Abb. 4: Außenansicht der Expositions-kammern	48
Abb. 5: Innenansicht der Expositions-kammern (in Ansicht spiegelverkehrt zu Abb. 3)	49
Abb. 6: Narkoseeinleitung in vorgefluteter Plexiglasröhre	52
Abb. 7: Narkosefortführung an individuellen Kopfkammern	52
Abb. 8: graphische Darstellung der AUC am Beispiel des Kortikosteronverlaufes unter GSM-Exposition in der Generation F0a	58
Abb. 9: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10) in ng/ml	59
Abb. 10: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10) in ng/ml	60
Abb. 11: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t15 der Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10) in ng/ml (p = 0,038)	61
Abb. 12: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t30 der Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10) in ng/ml	62
Abb. 13: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t60 der Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10) in ng/ml (p-Wert = 0,032)	63
Abb. 14: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 und t15 der Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10) in ng/ml (Isofluran: p = 0,001, Halothan: p = 0,004, wache Tiere: p = 0,001)	64
Abb. 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Werte der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t15, t30 und t60 und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 in ng/ml bei den Versuchsgruppen wache Tiere (n = 30), Isofluran (n = 10) und Halothan (n = 10)	65
Abb. 16: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 25) und SHAM (n = 35) in ng/ml in der Generation F0a	68
Abb. 17: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Größe der AUC (t0 bis t120) der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 25) und SHAM (n = 35) in der Generation F0a	68
Abb. 18: Darstellung des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt in Gramm der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 25) und SHAM (n = 35) in der Generation F0a	69
Abb. 19: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in ng/ml in der Generation F0b	71
Abb. 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Größe der AUC (t0 bis t120) der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in der Generation F0b (Einfluss der Exposition: p = 0,010)	71

Abb. 21: Darstellung des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt in Gramm der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in der Generation F0b.....	72
Abb. 22: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen GSM (n = 41), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41) in ng/ml in der Generation F2 ..	74
Abb. 23: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Größe der AUC (t0 bis t120) der Versuchsgruppen GSM (n = 41), UMTS (n = 41) und SHAM (n = 42) in der Generation F2	75
Abb. 24: Darstellung der Mittelwerte der erwarteten Größe der AUC in Abhängigkeit von Expositionsart, Gruppe und Gewicht (Einfluss der Exposition: p = 0,004, Einfluss der Interaktion zwischen Exposition und Gewicht: p = 0,005) in der Generation F2.....	76
Abb. 25: Darstellung des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt in Gramm der Versuchsgruppen GSM (n = 41), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41) in der Generation F2.....	76
Abb. 26: Darstellung der Mittelwerte der erwarteten Größe der AUC in Abhängigkeit von der Generation.....	79
Abb. 27: Vergleich der Basalkonzentrationen der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 26) und SHAM (n = 17) in ng/ml in der Generation F0a	81
Abb. 28: Vergleich der Basalkonzentrationen der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in ng/ml in der Generation F0b (Einfluss der Exposition: p = 0,008)	83
Abb. 29: Vergleich der Basalkonzentrationen gegliedert nach Expositionsart und Gruppe in der Generation F2 (n = 124; 41 GSM-, 42 UMTS- und 41 SHAM-Tiere) (Einfluss der Gruppe: p = 0,000).....	84
Abb. 30: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Basalkonzentrationen in ng/ml der Generationen F0a (n = 23), F0b (n = 27) und F2 (n = 42) unter GSM-Exposition	86
Abb. 31: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Basalkonzentrationen in ng/ml der Generationen F0a (n = 26), F0b (n = 24) und F2 (n = 42) unter UMTS-Exposition.....	86
Abb. 32: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Basalkonzentrationen in ng/ml der Generationen F0a (n = 35), F0b (n = 33) und F2 (n = 42) unter SHAM-Exposition.....	87
Abb. 33: Darstellung der Blutentnahmedauer in Minuten in der Generation F0a zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 26) und SHAM (n = 35)	88
Abb. 34: Darstellung der Blutentnahmedauer in Minuten in der Generation F0a zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen GSM gr (n = 27), UMTS (n = 24), und SHAM (n = 33) in ng/ml in der Generation F0b	89
Abb. 35: Darstellung der Blutentnahmedauer in Minuten in der Generation F0a zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen GSM Gr. 1 (n = 21), GSM Gr. 2 (n = 21), UMTS Gr.1 (n = 21), UMTS Gr. 2 (n = 21), SHAM Gr. 1 (n = 21) und SHAM Gr. 2 (n = 21) in ng/ml in der Generation F2 (Einfluss der Gruppe: p = 0,000).....	91
Abb. 36: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten in Generation F0a unter den unterschiedlichen Expositionsarten GSM (n = 23), UMTS (n = 26) und SHAM (n = 35).....	93
Abb. 37: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten in Generation F0b unter den unterschiedlichen Expositionsarten GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33).....	93
Abb. 38: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten in Generation F2 unter den unterschiedlichen Expositionsarten und GSM (n = 41), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41)	94

Abb. 39: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten bei den GSM-exponierten Tieren in den unterschiedlichen Generationen F0a (n = 23), F0b (n = 24) und F2 (n = 41)	94
Abb. 40: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten bei den UMTS-exponierten Tieren in den unterschiedlichen Generationen F0a (n = 26), F0b (n = 24) und F2 (n = 42)	95
Abb. 41: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten bei den SHAM-exponierten Tieren in den unterschiedlichen Generationen F0a (n = 35), F0b (n = 33) und F2 (n = 41)	95
Abb. 42: Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert in ng/ml in der Generation F0a bei den Versuchsgruppen GSM Gr. 1 (n = 14), GSM Gr. 2 (n = 9), UMTS Gr.1 (n = 14), UMTS Gr. 2 (n = 12), SHAM Gr. 1 (n = 18) und SHAM Gr. 2 (n = 17) (Einfluss der Gruppe: p = 0,031)	97
Abb. 43: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter GSM-Exposition der Gruppen GSM Gr. 1 (n = 14) und GSM Gr. 2 (n = 9)	97
Abb. 44: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter UMTS-Exposition der Gruppen UMTS Gr. 1 (n = 14) und UMTS Gr. 2 (n = 12)	98
Abb. 45: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter SHAM-Exposition der Gruppen SHAM Gr. 1 (n = 18) und SHAM Gr. 2 (n = 17)	98
Abb. 46: Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert in ng/ml in der Generation F0b bei den Versuchsgruppen GSM Gr. 1 (n = 15), GSM Gr. 2 (n = 12), UMTS Gr.1 (n = 13), UMTS Gr. 2 (n = 11), SHAM Gr. 1 (n = 15) und SHAM Gr. 2 (n = 18) (Einfluss der Expositionsart: p = 0,012, Einfluss der Gruppe: p = 0,026)	100
Abb. 47: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter GSM-Exposition der Gruppen GSM Gr. 1 (n = 15) und GSM Gr. 2 (n = 12)	100
Abb. 48: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter UMTS-Exposition der Gruppen UMTS Gr. 1 (n = 13) und UMTS Gr. 2 (n = 11)	101
Abb. 49: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter SHAM-Exposition der Gruppen SHAM Gr. 1 (n = 15) und SHAM Gr. 2 (n = 18)	101
Abb. 50: Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert in ng/ml in der Generation F2 bei den Versuchsgruppen GSM Gr. 1 (n = 21), GSM Gr. 2 (n = 21), UMTS Gr.1 (n = 21), UMTS Gr. 2 (n = 21), SHAM Gr. 1 (n = 21) und SHAM Gr. 2 (n = 21) (Einfluss der Gruppe: p = 0,044)	103
Abb. 51: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter GSM-Exposition der Gruppen GSM Gr. 1 (n = 21) und GSM Gr. 2 (n = 21)	103
Abb. 52: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter UMTS-Exposition der Gruppen UMTS Gr. 1 (n = 21) und UMTS Gr. 2 (n = 21)	104
Abb. 53: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter SHAM-Exposition der Gruppen SHAM Gr. 1 (n = 21) und SHAM Gr. 2 (n = 21)	104
Abb. 54: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen von Diff_Cort_Max_Basal gegliedert nach Generation und Expositionsart der Versuchsgruppen F0a/GSM (n = 23), F0a/UMTS (n = 26), F0a/SHAM (n = 35),	

F0b/GSM (n = 27), F0b/UMTS (n = 24), F0b/SHAM (n = 33), F2/GSM (n = 41) und F2/UMTS (n = 42) und F2/SHAM (n = 41).....	107
Abb. 55: Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in der F0a-Generation unabhängig von der Exposition.....	109
Abb. 56: Gegenüberstellung der expositionsbezogenen Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration in der Generation F0a bei den Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 26) und SHAM (n = 35)	110
Abb. 57: Darstellung Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in der F0b-Generation unabhängig von der Exposition ..	111
Abb. 58: Gegenüberstellung der expositionsbezogenen Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration in der Generation F0b bei den Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33)	111
Abb. 59: Darstellung Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in der F2-Generation unabhängig von der Exposition	112
Abb. 60: Gegenüberstellung der expositionsbezogenen Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration in der Generation F2 bei den Versuchsgruppen GSM (n = 40), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41)	113
Abb. 61: Vergleich der Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration zwischen den Generationen der GSM-exponierten Tiere	114
Abb. 62: Vergleich der Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration zwischen den Generationen der UMTS-exponierten Tiere	114
Abb. 63: Vergleich der Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration zwischen den Generationen der SHAM-exponierten Tiere.....	115

I. Einleitung

Mobilfunkgeräte sind heute nicht mehr aus dem Alltag wegzudenken. Sie erleichtern Arbeitsabläufe und steigern den individuellen Komfort. Die Mobilfunktechnik greift durch ihre Allgegenwärtigkeit aber auch stark in das berufliche und private Leben ein. Zum Schutz vor schädigenden Wirkungen durch die von Mobilfunkgeräten erzeugten hochfrequenten-elektromagnetischen Felder wurden Grenzwerte festgelegt. Die Problematik dieser Grenzwerte ist, dass es unterhalb dieser Grenzwerte bisher keine gesicherten Beweise für die Existenz schädigender Effekte durch elektromagnetische Felder gibt. Da die Anzahl der Mobilfunkteilnehmer in den vergangenen Jahren stark angestiegen ist, ist auch das öffentliche Interesse an potentiellen gesundheitsschädlichen Risiken durch elektromagnetische Felder gewachsen. Immer häufiger wird durch kritische Stimmen die Frage nach Langzeiteffekten und nach der Zulänglichkeit der festgelegten Grenzwerte gestellt.

Aus ethischen Gründen dürfen Probanden bei Untersuchungen zu potentiellen gesundheitsschädlichen Wirkungen niemals Menschen sein. Es ist zudem schwierig, bei einer repräsentativen Anzahl an Probanden eine identische Strahlenexposition über einen längeren Zeitraum im Versuchsaufbau zu garantieren, weshalb nur wenige Studien zur Langzeitbelastung durch elektromagnetische Strahlung beim Menschen vorliegen. Zur weiteren Erforschung potentieller Wirkungen sind deshalb standardisierte Tierversuche unerlässlich.

Das Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit und das Bundesamt für Strahlenschutz riefen aus diesem Grund das Tierversuchsvorhaben „In vivo-Langzeituntersuchungen des Einflusses elektromagnetischer Felder der Mobilfunkkommunikation im Rattenmodell“ ins Leben. Das Versuchsprojekt umfasste unterschiedliche Arbeitsgruppen (Untersuchungen zur Funktion des Immunsystems, zur Stressbelastung, zur kognitiven Leistung und zur Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke), die Untersuchungen an Ratten durchführten, die sich täglich 24 Stunden unter elektromagnetischer Exposition befanden, und das Ziel verfolgten, bestehende Lücken im Wissen um Langzeitwirkungen durch elektromagnetische Strahlung zu schließen und die bestehenden Grenzwerte zu bestätigen oder Anregungen für Änderungen zu geben. In dieser hier vorliegenden Arbeit wurde der Aspekt „Stressbelastung“ bearbeitet.

II. Literaturübersicht

1. Das Versuchstier Ratte

Die heute für Forschungsprojekte eingesetzten Laborratten sind fast ausschließlich Nachfahren der Wanderratte (*Rattus norvegicus*). Diese war ursprünglich im gemäßigten Ostasien, Sibirien und China beheimatet und fand erst in der Neuzeit durch menschliche Verkehrsmittel Verbreitung. Von privaten Züchtern aus gelangten ab Mitte des 19. Jahrhundert Wanderratten über Händler in Laboratorien. Ab Anfang des 20. Jahrhunderts wurden am Wistar-Institut in Philadelphia/USA erste systematische Rattenzuchten für wissenschaftliche Zwecke durchgeführt (WEISS ET AL., 2003).

Die Gründe für die weite Verbreitung der Ratte als Versuchstier sind ihre relativ leichte Verfügbarkeit, ihre hohe Nachkommenzahl und die unproblematische Zucht und Haltung unter Laborbedingungen. Zudem weisen die Ratten eine ausreichende Größe für verschiedenste operative Eingriffe und in ihren physiologischen Eigenschaften eine Reihe von Ähnlichkeiten mit der Physiologie des Menschen auf. Des Weiteren zeichnen sich Ratten durch eine bemerkenswerte Anpassungsfähigkeit aus (WEISS ET AL., 2003).

Die Ratte steht als Versuchstier, gemessen an der Zahl der für Tierexperimente verwendeten Tiere, hinter Mäusen an zweiter Stelle. Laut aktuellem Tierschutzbericht waren im Jahr 2002 23,5 % aller für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Versuchstiere Ratten, im Jahr 2003 23,7 % (BUNDESREGIERUNG, 2005).

Die empfohlene Durchschnittstemperatur bei der Haltung von Ratten beträgt 22° C (20-24° C), die empfohlene relative Luftfeuchtigkeit beträgt im Durchschnitt 55 %. Die Lichtintensität sollte 60 Lux nicht überschreiten, da bei höheren Intensitäten mit pathologischen Netzhautveränderungen und einer erhöhten Aktivität der endokrinen Organe gerechnet werden muss. Eine Ammoniakkonzentration von wenigen parts per million (ppm) beeinflusst bereits die Aktivität der Flimmerhärchen in der Luftröhre. Bei maßvoller Besatzdichte, ausreichender Einstreumenge und zweimaligem Umsetzen pro Woche kann die Ammoniakentstehung in den Laborkäfigen allerdings gering gehalten werden, so dass keine gesundheitlichen Gefährdungen oder Beeinflussungen von Versuchsabläufen und –ergebnissen zu erwarten sind (WEISS ET AL., 2003).

2. Gesetzliche Grundlagen und Empfehlungen

Der Grundsatz, dass niemand einem Tier ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen darf (TIERSCHUTZGESETZ, 2006), bildet die gesetzliche und ethische Grundlage für die Durchführung von Tierversuchen. Im TIERSCHUTZGESETZ sind generelle Grundsätze für die Haltung und den Umgang mit Tieren verankert. Detaillierte Vorschriften für die Unterbringung und die notwendigen Umweltbedingungen von Versuchstieren sind in Leitlinien oder auf diesen Leitlinien basierenden Gesetzen verankert (EUROPÄISCHES ÜBEREINKOMMEN VOM 18. MÄRZ 1986).

Im fünften Abschnitt des TIERSCHUTZGESETZES erfolgt die Definition des Rechtsbegriffes Tierversuch, eine Festlegung der gesetzlich zugelassenen Gründe zur Durchführung von Tierversuchen und der Personen, die legitimiert sind, Tierversuche durchzuführen. Des Weiteren sind Genehmigungs- und Meldeverfahren sowie Bestimmungen zur Durchführung von Tierversuchen erläutert. Gemäß der Ermächtigung durch § 16 c des TIERSCHUTZGESETZES wurde die VERSUCHTIERMELDEVERORDNUNG (VersTierMeldV, 1999) erlassen. In dieser Verordnung ist verfügt, dass in bestimmten, regelmäßigen Abständen den zuständigen Behörden Angaben über Art, Herkunft und Zahl der verwendeten Tiere sowie über den Zweck und die Art der Versuchen zu machen sind.

Das BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZ (BImSchG, 2002) wurde zum Schutz vor schädlichen Umwelteinflüssen erlassen. In Anhang 1 der SECHSUNDZWANZIGSTEN VERORDNUNG ZUR DURCHFÜHRUNG DES BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZES (erlassen auf Grund des § 23 Abs. 1 des BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZES) sind für die Allgemeinbevölkerung Emissions-Grenzwerte für elektromagnetische Strahlung festgelegt, die von Hochfrequenzanlagen nicht überschritten werden dürfen. Den Grenzwerten dieser Verordnung liegen die in den GUIDELINES FOR LIMITING EXPOSURE TO TIME-VARYING ELECTRIC, MAGNETIC AND ELECTROMAGNETIC FIELDS (INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION, 1998) genannten Ganzkörper-SAR-Basisgrenzwerte zu Grunde. Diese Empfehlungen basieren auf wissenschaftlich nachgewiesenen, gesundheitsrelevanten biologischen Wirkungen, die durch Feldeinwirkungen ausgelöst werden können. Die SECHSUNDZWANZIGSTE VERORDNUNG ZUR DURCHFÜHRUNG DES BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZES gilt weder für den Arbeitsschutz (BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2006a) noch für nicht-

ortsfeste (z.B. elektrische Geräte und Handys) Anlagen (FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007d).

Für den Schutz von Personen, die während der Berufsausübung elektromagnetischer Strahlung ausgesetzt sind, findet die vom Bundesministerium für Arbeit und Sozialordnung genehmigte Unfallverhütungsvorschrift „Elektromagnetische Felder“ BGV BV 11 Anwendung (BERUFGENOSSENSCHAFT DER FEINMECHANIK UND ELEKTROTECHNIK, 2001). Im Allgemeinen gelten für berufliche Expositionen geringere Sicherheitsfaktoren als für die Allgemeinbevölkerung, da der Personenkreis der beruflich Exponierten aus Erwachsenen besteht, die unter kontrollierten Bedingungen für die Dauer eines Arbeitstages elektromagnetischen Feldern ausgesetzt sind. Für die Einhaltung der Vorschrift sind die Unternehmen verantwortlich (BUNDESMINISTERIUM FÜR WIRTSCHAFT UND TECHNOLOGIE, 2007a).

Betreiber einer ortsfesten Sendeanlage mit einer Leistung ab 10 Watt benötigen zudem eine Standortbescheinigung der Regulierungsbehörde für Telekommunikation und Post. Die Erteilung dieser Bescheinigung erfolgt entsprechend der VERORDNUNG ÜBER DAS NACHWEISVERFAHREN ZUR BEGRENZUNG ELEKTROMAGNETISCHER FELDER VOM 20. AUGUST 2002 und dient der Einhaltung der Grenzwerte zum Schutz von Personen in elektromagnetischen Feldern. Zum Kreis der Verpflichteten gehören neben kommerziellen Betreibern von Funkanlagen auch Funkamateure und Sender des öffentlichen-rechtlichen Rundfunks (BUNDESMINISTERIUM FÜR WIRTSCHAFT UND TECHNOLOGIE, 2007b).

3. Strahlung und elektromagnetische Felder

3.1 Physikalische Grundlage

Strahlung ist definiert als der Transport von Energie im Raum, ohne dass dazu ein umgebendes „tragendes“ Medium zwingend notwendig ist (EDER *ET AL.*, 1986). Der Überbegriff Strahlung kann nach bestimmten Kriterien in Teilbereiche unterteilt werden.

Strahlung kann zum einen nach ihrer Ruhemasse näher bestimmt werden. Man unterscheidet Strahlung mit der Ruhemasse Null von Strahlung mit einer von Null verschiedenen Ruhemasse. Strahlung mit der Ruhemasse Null wird als Photonenstrahlung oder elektromagnetische Strahlung (JUNG, 1979; KAUFFMANN ET

AL., 2006), Strahlung mit einer von Null verschiedenen Ruhemasse wird als Korpuskular- oder Teilchenstrahlung (BIBLIOGRAPHISCHES INSTITUT AG, 1979b) bezeichnet. Korpuskularstrahlung besteht aus geladenen (z.B. Elektronen, Protonen, Deuteronen, Alphateilchen) oder ungeladenen (z.B. Neutronen) Teilchen (KAUFFMANN ET AL., 2006).

Elektromagnetische Strahlung entsteht, wenn elektrische Ladung (v.a. Elektronen) eine beschleunigte Bewegung erfährt (BIBLIOGRAPHISCHES INSTITUT AG, 1979b; SEIBT, 1996). Bei elektromagnetischen Wellen handelt es sich um Transversalwellen. Dies bedeutet, dass die Vektoren der elektrischen (Einheit: V/m) und magnetischen Feldstärke (Einheit: A/m) stets senkrecht aufeinander und gemeinsam in einer Ebene senkrecht zur Ausbreitungsrichtung stehen. Beide Felder sind miteinander gekoppelt und induzieren sich gegenseitig. Die Erklärung für die gegenseitige Induktion basiert auf der Tatsache, dass elektrische Felder elektrische Ladung transportieren, bewegte elektrische Ladungen ihrerseits magnetische Wechselfelder erzeugen und magnetische Wechselfelder elektrische Felder induzieren. Je schneller die Feldänderungen bei höherer Frequenz erfolgen, desto stärker ist diese wechselseitige Verknüpfung ausgeprägt. Ab Frequenzen über 30 kHz lösen sich die Felder von der verursachenden Quelle und breiten sich im Raum aus. Da dann eine getrennte Betrachtung der elektrischen und magnetischen Komponente des Feldes nicht mehr möglich ist, spricht man von elektromagnetischen Feldern (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR LANDESENTWICKLUNG UND UMWELTFRAGEN, 2002; FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007a).

Zum Spektrum der Photonen- bzw. elektromagnetischen Strahlung gehören unter anderem die Rundfunkwellen, die Wellen des sichtbaren Lichts und die Röntgenstrahlung (TRAUTWEIN ET AL., 2004).

Eine Einteilung der Strahlung entsprechend ihres Energiegehaltes in ionisierende und nicht-ionisierende Strahlung ist ebenfalls möglich. Die Messung des Energiegehaltes erfolgt in Elektronenvolt eV (KAUFFMANN ET AL., 2006).

Unter Ionisation versteht man den Vorgang der Ionenbildung durch Abtrennung mindestens eines Elektrons aus einem neutralen Atom oder Molekül oder die Anlagerung eines oder mehrerer Elektronen an ein neutrales Atom oder Molekül (BIBLIOGRAPHISCHES INSTITUT AG, 1979a). Die Ionisation kann direkt oder indirekt erfolgen. Bei dem Vorgang der direkten Ionisation geben elektrisch geladenen Teilchen ihre Energie unmittelbar durch Stöße an die Materie entlang ihrer Bahn ab

(z.B. Elektronen, Protonen, Deuteronen, Alphateilchen). Indirekte Ionisation entsteht durch Strahlung (z.B. Neutronenstrahlung, Röntgen-, Gammastrahlung), die durch Wechselwirkung mit einem Atom des absorbierenden Materials ein geladenes Teilchen erzeugt, das seinerseits durch Stöße Energie abgeben kann (KAUFFMANN ET AL., 2006).

In der Natur gibt es Expositionen mit ionisierender Strahlung durch Höhen-, Boden- (Umgebungsstrahlung, z.B. aus Wänden der Häuser) und Eigenstrahlung (durch radioaktive Atome, die naturgemäß im Körper vorhanden sind) (HARTEN ET AL., 1999). Zur Gruppe der nicht-ionisierenden Strahlung gehören das sichtbare Licht, Wärmestrahlung, TV-, Radio- und Mobilfunkwellen (BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2006c).

Da die für die Mobilfunkkommunikation genutzte Strahlung der elektromagnetischen, nicht-ionisierenden Strahlung zuzuordnen ist, wird im Folgenden näher auf die Charakteristika elektromagnetischer Strahlung und elektromagnetischer Felder eingegangen (FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007b).

Elektromagnetische Transversalwellen breiten sich im Vakuum mit Lichtgeschwindigkeit aus. In isolierendes Material in einem elektrischen Feld können elektromagnetische Wellen eindringen, nicht aber in metallische Leiter. Beim Eindringen werden die Wellen geschwächt und der Höchstwert sinkt exponentiell mit der Eindringtiefe. Beim Auftreffen auf eine Metallwand werden elektromagnetische Wellen vollständig reflektiert (BREUER, 1996).

Tritt elektromagnetische Strahlung der Frequenz f (Einheit Schwingungen pro Sekunde, Hertz, Hz) mit Atomen oder Elektronen in Wechselwirkung, muss man sie als einen Strom von Energiequanten (Photonen) betrachten, von denen ein jedes die Energie $E = h \times f$ (h : PLANCK'schen Wirkungskonstante: $h = 6,67 \times 10^{-34}$) besitzt (EDER ET AL., 1986; SEIBT, 1996; KAUFFMANN ET AL., 2006). Zusätzlich kann man mit Hilfe des für alle Wellen gültigen Zusammenhanges $\lambda = c/f$ (c entspricht der Lichtgeschwindigkeit $3,0 \times 10^8$ m/s, λ entspricht der Wellenlänge in m) die einer Frequenz entsprechende Wellenlänge errechnen. Aus dieser Formel lässt sich zusätzlich ableiten, dass sich Frequenz und Wellenlänge reziprok verhalten, d.h. mit zunehmender Wellenlänge nimmt die Frequenz ab und umgekehrt. Aus der Kombination und Umformung der beiden genannten Formeln ergibt sich die Formel $E = (h \times c)/\lambda$, die den Zusammenhang zwischen Wellenlänge und der dazugehörigen

Quantenenergie wiedergibt. Die Formel lässt den Schluss zu, dass sich die Energie indirekt proportional zu $1/\lambda$ verhält, d.h. mit sinkender Wellenlänge und damit steigender Frequenz nimmt die Energie der Strahlung zu (SEIBT, 1996, BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2006c).

Elektromagnetische Wellen umfassen einen kontinuierlichen Wellenlängenbereich, das sogenannte elektromagnetische Spektrum. Die Wellen dieses Spektrums weisen zahlreiche Gemeinsamkeiten auf, besonders hinsichtlich ihrer Entstehung und Ausbreitung (SEIBT, 1996). Es ist dennoch eine Unterteilung in Untergruppen gemäß der Frequenz und damit der Wellenlänge und Energie möglich (JUNG, 1979; HARMS, 1998). Elektromagnetische Wellen erstrecken sich in ihren Wellenlängen und Frequenzen über einen Bereich von mehr als 18 Zehnerpotenzen (HARMS, 1998). Das elektromagnetische Spektrum lässt sich gemäß dem Energiegehalt in einen nicht-ionisierenden und einen ionisierenden Bereich unterteilen. In den ionisierenden Bereich gehören Teile des UV-Lichts, die Röntgen- und Gammastrahlung. Im nicht-ionisierenden Bereich erfolgte eine Aufteilung gemäß der Frequenz in Niederfrequenz (Frequenz < 30 kHz, z.B. Bahnstromleitungen), Hochfrequenz (Frequenz > 30 kHz bis 300 GHz, z.B. Radio, Fernsehen, Mikrowellen, Mobilfunk), Infrarot (10^{14} bis 10^{13} Hz) und in den Bereich des sichtbaren Lichtes (10^{16} Hz) (BREUER, 1996, SEIBT, 1996, BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2006c).

Elektromagnetische Felder können sich von der Quelle (z.B. Antenne) lösen und sich im Raum über große Entfernung ausbreiten. Diese Eigenschaft nutzt man bei der Informationsübertragung, z.B. via Rundfunk, Fernsehen und Mobilfunk (FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007b). Die elektrische und die magnetische Feldstärke eines elektromagnetischen Feldes nehmen mit dem Abstand r zur Quelle entsprechend $1/r$ ab. Die Leistungsflußdichte als das Produkt aus elektrischer und magnetischer Feldstärke reduziert sich demnach mit zunehmendem Abstand r von der Quelle proportional $1/r^2$ (quadratisches Abstandsgesetz) (SEIBT, 1996; BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2007).

Elektromagnetische Felder werden in Nah- und Fernfelder untergliedert. Im Fernfeld einer Quelle ist die Entfernung zu dieser Quelle wesentlich größer als die Wellenlänge und die Strahlung weist die bereits erläuterten Charakteristika einer transversalen Welle auf (TRAUTWEIN *ET AL.*, 2004; FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007c). Im Nahfeld ist die Verteilung der

elektrischen und magnetischen Felder sehr kompliziert, die beiden Felder können zeitlich gegeneinander verschoben sein (TRAUTWEIN ET AL., 2004).

3.2 Mobilfunk allgemein

Der Mobilfunk dient der kabellosen Übertragung von Sprache oder anderen Daten (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR LANDESENTWICKLUNG UND UMWELTFRAGEN, 2002). Das erste in Deutschland operierende Netz war das handvermittelte Funktelefonnetz, das sogenannte A-Netz (1958). Dem A-Netz folgten das B- (1972) und das C-Netz (1984). Diese Systeme arbeiteten mit einer nationalen Norm, was eine Nutzung außerhalb Deutschlands ausschloss. Sie sind heute nicht mehr im Betrieb. Im Jahre 1992 wurde das digitale (das entstehende Signal wird in eine Folge von Einsen und Nullen übersetzt) D-Netz und 1994 das digitale E-Netz eingeführt (FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007f).

Jedes Mobilfunknetz besteht aus einer Vielzahl von Sende- und Empfangsstationen, den sogenannten „Basisstationen“, und ist als zellulares Netz aufgebaut. Der gesamte Versorgungsbereich ist in dicht aneinandergrenzende Funkzellen aufgeteilt, in denen sich jeweils eine fest installierte Basisstation befindet (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2007). Der Begriff Funkzelle ist mit der Reichweite einer Antenne mit ihren Steuer- und Versorgungselementen gleichzusetzen. Die Gesamtheit der aneinandergrenzenden und sich zum Teil überlagernden Funkzellen bildet den Netzabdeckungsbereich eines Mobilfunkanbieters. Kleinere Funkzellen erlauben eine höhere Nutzungsdichte. Hieraus folgt, dass in ländlichen Regionen große, in städtischen Gebieten viele, kleine Funkzellen benötigt werden. Es gibt Sendeantennen, die Signale ungerichtet in alle Richtungen ausstrahlen und empfangen (360°), und Antennen, deren Sende- und Empfangsbereich auf einen Sektor (z.B. 90° oder 120°) eingeschränkt ist. Diese Sektorantennen ermöglichen die Realisierung kleiner Zellen ohne dazu zusätzliche Antennen installieren zu müssen (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006).

Die Informationsübertragung zwischen Mobilfunkgerät und Basisstation geschieht mit Hilfe hochfrequenter elektromagnetischer Felder. Die Verknüpfung der Basisstationen erfolgt über Kabel, Richtfunk oder Glasfaser. Elektromagnetische Wellen sind durch ihre Frequenz, ihre Amplitude (Signalstärke) und ihren

Phasenzustand gekennzeichnet. Bei einem Modulationsverfahren können eine oder mehrere dieser Charakteristika verändert werden: die Amplitude bei der Amplitudenmodulation, die Frequenz bei der Frequenzmodulation oder die Phase bei der Phasenmodulation (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, ERNÄHRUNG UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2003; FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007f). Die Sendeleistung von Basisstationen ist um den Faktor zehn bis 100 höher als die Sendeleistung eines Mobilfunkgerätes. Durch die Nähe des Mobilfunkgerätes zum Kopf wird der Mobilfunknutzer allerdings durch die vom Handy ausgestrahlten Wellen einer 10.000-fach stärkeren Leistungsflussdichte ausgesetzt (FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007f).

Bei der Übertragung der Information muss geregelt sein, wie das vom Mobilfunkgerät gesendete (sog. „Uplink“) und das vom Mobilfunkgerät empfangene Signal (sog. „Downlink“) gleichzeitig übertragen werden kann (sog. „Duplex-Verfahren“). Zusätzlich muss die Basisstation die Signale verschiedener Mobilfunkgeräte unterscheiden und zuordnen (sog. „Vielfachzugriffs-Verfahren“) können (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006).

Die in Europa derzeit am häufigsten verwendeten Technologien sind das GSM - und das UMTS-System (STAATSMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, ERNÄHRUNG UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2003), auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll.

3.3 GSM

Die Abkürzung GSM steht für das Global System for Mobile Communications, einem weltweit verbreiteten Standard für digitalen Mobilfunk der sogenannten „zweiten Generation“ (WIEDERKEHR, 2001).

Bei der Beschreibung der GSM-Frequenzbereiche wird zwischen GSM-900 und GSM-1800 unterschieden. Der Grund für diese Unterscheidung liegt in der Nutzung unterschiedlicher Frequenzbereiche (Frequenzbänder). Diese liegen bei GSM-900 im Bereich von 900 MHz (880 bis 915 MHz und 925 bis 960 MHz) und bei GSM-1800 im Bereich von 1800 MHz (1710 bis 1785 MHz und 1805 bis 1880 MHz). GSM-900 wird in Deutschland von den Mobilfunkanbietern T-Mobile International (D1) und Vodafone (D2) benutzt und als D-Netz bezeichnet. GSM-1800 dagegen wird E-Netz

genannt. Die Betreiber des E-Netzes sind O2 (E1) und E-Plus (E2). Derzeit erhältliche Mobilfunkgeräte besitzen im Allgemeinen eine Dual-Band-Technik (d.h. GSM-900 und GSM-1800) (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006).

Die Funkzellengröße des D-Netzes beträgt 0,5 km bis 35 km, des E-Netzes 0,2 km bis 10 km. Die Datenübertragung erfolgt mit einer Geschwindigkeit von 9,6 kbit/s (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2007).

Um die gleichzeitige Verfügbarkeit von Up- und Downlink zu gewährleisten kommt bei der GSM-Technologie das Frequency-Division-Duplex-Verfahren zur Anwendung. Hierbei wird das Senden und Empfangen in unterschiedlichen Frequenzblöcken durchgeführt. Für das GSM-System sind vier Frequenzbänder festgelegt (je ein Up- und ein Downlink-Frequenzband für GSM-900 und ebenso für GSM-1800). Die Frequenzbänder werden in Frequenzkanäle mit einer Bandbreite von 200 kHz unterteilt. Das Signal eines Nutzers wird in einem derartigen Kanal übertragen. Dieses Vielfachzugriff-Verfahren wird als „Frequency-Division-Multiple-Access-Verfahren“ bezeichnet. Zur Erzielung einer hohen Teilnehmerzahl wird in diesem System eine zusätzliche Kapazitätserhöhung durch die Aufteilung eines Kanals auf bis zu acht Teilnehmer erreicht. Die Information eines Gespräches wird dazu in kleinere Portionen zerlegt, die in kurzen Zeitschlitzten übermittelt werden. Die Daten werden auf dem Funkkanal als kurze Pakete („Burst“) gesendet und hierzu in den Rahmen von acht Zeitschlitzten eingefügt. Ein Zeitschlitz dauert 577 Mikrosekunden. Jedes Signal hat in der wiederkehrenden Abfolge der acht Zeitschlitzte seine definierte Position. Die anderen Zeitschlitzte sind anderen Nutzern zugeordnet (Time-Division-Multiple-Access-Verfahren) (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, ERNÄHRUNG UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2003; BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006).

3.4 UMTS

Die Abkürzung UMTS steht für Universal Mobile Telecommunications System. Hierbei handelt es sich als Nachfolgetechnologie der GSM-Technologie um ein Mobilfunksystem der sogenannten „dritten Generation“. Der Grund für die Entwicklung des UMTS-Systems liegt darin begründet, dass mit UMTS größere

Datenmengen übertragen werden können und in der Tatsache, dass die Zellstruktur dynamischer und flexibler aufgeteilt werden kann. Mit UMTS besteht durch die hohe Übertragungsrate neben der Sprachkommunikation auch die Möglichkeit Multimedia-Anwendungen (Bild- und Videoübertragung) zu übermitteln. Die Übertragungsrate beträgt bis zu 384 kbit/s (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006; BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2007).

Die Funkzellen des UMTS-Systems unterteilt man entsprechend der Größe in Makro- (Durchmesser: 4 – 6 km), Mikro- (Durchmesser: 1 – 2 km) und Pikozellen (Durchmesser: ca. 100 m). Die Funkzellen im UMTS-System variieren in ihrer Größe, da sich alle Teilnehmer innerhalb einer Zelle die Sendeleistung teilen. Bei intensiver Nutzung (z.B. viele Nutzer mit geringer Datenrate oder wenige Nutzer mit hoher Datenrate) kann sich die effektive Zellgröße verkleinern. Die Konsequenz, um Versorgungslücken zu vermeiden, ist eine höhere Anzahl an Antennenstandorten als beim GSM-System (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006).

UMTS arbeitet in einem Frequenzbereich von 1900 bis 2170 MHz, einem Bereich der knapp oberhalb des GSM-1800-Bereiches liegt. Die Daten der verschiedenen Verbindungen werden beim UMTS-System nicht in Zeitschlitzte verpackt, sondern werden kontinuierlich auf der gleichen Frequenz gesendet. Die Begrenzung der einzelnen Verbindungen erfolgt durch eine individuelle Codierung (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2007).

Um die gleichzeitige Verfügbarkeit von Up- und Downlink zu gewährleisten, kommt bei der UMTS-Technologie ebenfalls das bereits erläuterte Frequency-Division Duplex-Verfahren zur Anwendung. Da mehrere Nutzer innerhalb einer Funkzelle Signale mit der gleichen Frequenz senden und empfangen, wird zusätzlich das Code-Division-Multiple-Access-Vielfachzugriffsverfahren eingesetzt, bei dem das Signal eines jeden einzelnen Nutzers mit einem eigenen Code versehen wird, der von der Basisstation erkannt wird (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2006).

3.5 Grenzwerte

Bei den Grenzwerten unterscheidet man zwei frequenzabhängige Kategorien, Basisgrenzwerte und Referenzwerte.

Basisgrenzwerte sind Beschränkungen der Exposition durch zeitlich veränderliche elektromagnetische Felder, die unmittelbar auf gesicherten Gesundheitsfolgen basieren. Je nach Frequenz sind die zur Spezifizierung der Basisgrenzwerte der Exposition mit elektromagnetischen Feldern herangezogenen physikalischen Größen die Stromdichte, die SAR (spezifische Energieabsorptionsrate) und die Leistungsdichte. Die spezifische Absorptionsrate SAR beschreibt die Energie, die pro Kilogramm Körpergewicht (Einheit: W/kg) in einer bestimmten Zeit vom Körper aufgenommen wird (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR LANDESENTWICKLUNG UND UMWELTFRAGEN, 2002). Zum Schutz vor nachteiligen Auswirkungen auf die Gesundheit dürfen die Basisgrenzwerte nicht überschritten werden.

Die Referenzwerte dienen zur Expositionsbeurteilung in der Praxis, um zu überprüfen, ob die Basisgrenzwerte eingehalten werden. Die Referenzwerte wurden teilweise unter Nutzung von Mess- und/oder Berechnungsverfahren abgeleitet; teilweise beziehen sie sich auf die Wahrnehmung und schädliche indirekte Wirkungen der Exposition durch elektromagnetische Felder. Die abgeleiteten Größen sind die elektrische und magnetische Feldstärke, die elektrische Flussdichte, die Leistungsdichte und durch Gliedmaßen fließende Ströme. Größen, die sich auf die Wahrnehmung und andere indirekte Wirkungen beziehen, sind der Kontaktstrom und die spezifische Energieabsorption (SA). Die Einhaltung der Referenzwerte bedeutet immer die Einhaltung des entsprechenden Basisgrenzwertes. Allerdings bedeutet eine Überschreitung des Referenzwertes nicht zwingend eine Überschreitung des Basisgrenzwertes. In letztgenanntem Fall ist zu prüfen, ob zusätzliche Sicherheitsmaßnahmen notwendig sind (BUNDESMINISTERIUM FÜR UMWELT, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT UND BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 1999). Die Grenzwerte für den Schutz der Bevölkerung vor gesundheitlichen Gefahren durch hochfrequente-elektromagnetische Felder sind in der SECHSUNDZWANZIGSTEN VERORDNUNG ZUR DURCHFÜHRUNG DES BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZES festgelegt. Eine Zusammenfassung der Grenzwerte findet sich in Tabelle 1 (Tab. 1).

Tab. 1: Grenzwerte für Hochfrequenzanlagen gemäß 26. BImSchV

	Effektivwert der Feldstärke, quadratisch gemittelt über 6-Minuten-Intervalle	
Frequenz (f) in MHz	Elektrische Feldstärke in V/m	Magnetische Feldstärke in A/m
10 - 400	27,5	0,073
400 - 2.000	$1,375\sqrt{f}$	$0,0037\sqrt{f}$
2.000 - 300.000	61	0,16

(Quelle: FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007d)

Die Grenzwerte basieren auf den in den GUIDELINES FOR LIMITING EXPOSURE TO TIME-VARYING ELECTRIC, MAGNETIC AND ELECTROMAGNETIC FIELDS festgelegten Empfehlungen (Tab. 2). Es wurde ein Ganzkörper SAR-Wert von 0,4 W/kg und ein Teilkörper SAR-Wert von 10 W/kg für die berufliche Exposition und ein Ganzkörper SAR-Wert von 0,08 W/kg und Teilkörper SAR-Wert von 2 W/kg für die Exposition der Allgemeinheit festgelegt (INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION, 1998).

Tab. 2: Basisgrenzwerte für die Exposition der Bevölkerung

Frequenzbereich	Magnetische Flussdichte (mT)	Stromdichte (mA/m²) (Effektivwerte)	Mittlere Ganzkörper-SAR (W/kg)	Lokale SAR (Kopf und Rumpf) (W/kg)	Lokale SAR (Gliedmaßen) (W/kg)	Leistungsdichte S (W/m²)
0 Hz	40	-	-	-	-	-
< 0 - 1 Hz	-	8	-	-	-	-
1 - 4 Hz	-	8/f	-	-	-	-
4 - 1.000 Hz	-	2	-	-	-	-
1.000 Hz - 100 kHz	-	f/500	-	-	-	-
100 kHz - 10 MHz	-	f/500	0,08	2	4	-
10 MHz - 10 GHz	-	-	0,08	2	4	-
10 GHz - 300 GHz	-	-	-	-	-	10

(Quelle: FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007e)

Die SECHSUNDZWANZIGSTE VERORDNUNG ZUR DURCHFÜHRUNG DES BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZES gilt nicht für den Arbeitsschutz (BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2006a) und auch nicht für nicht-ortsfeste (z.B. elektrische Geräte und Handys) Anlagen (FORSCHUNGSZENTRUM FÜR ELEKTRO-MAGNETISCHE UMWELTVERTRÄGLICHKEIT, 2007d).

Für den Schutz von Personen, die während der Berufsausübung elektromagnetischer Strahlung ausgesetzt sind, findet die vom Bundesministerium für Arbeit und Sozialordnung genehmigte Unfallverhütungsvorschrift „Elektromagnetische Felder“ BGV BV 11 Anwendung (BERUFSGENOSSENSCHAFT DER FEINMECHANIK UND ELEKTROTECHNIK, 2001). Im Bereich des Mobilfunkes ist mit Einhaltung der spezifischen Teilkörper-Absorptionsrate der Gesundheitsschutz gewährleistet (BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR UMWELT, GESUNDHEIT UND VERBRAUCHERSCHUTZ, 2007). Die Grenzwerte sind je nach Mobilfunknetz (D-Netz: 41 V/m, 0,11 A/m, E-Netz: 58 V/m, 0,16 A/m, UMTS-Netz: 61 V/m, 0,16 A/m) unterschiedlich (BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2006b).

3.6 Einflüsse hochfrequenter-elektromagnetischer Felder auf biologische Parameter

Grundsätzlich sind die Einflüsse hochfrequenter nicht-ionisierender elektromagnetischer Strahlung auf biologische Parameter in unterschiedliche Kategorien einzuteilen: es gibt gesicherte Einflüsse (die durch mehrere Studien nachgewiesen wurden und reproduzierbar waren), wahrscheinliche (mehrfache Hinweise auf Einflüsse), mögliche (einzelne Hinweise auf Einflüsse), unwahrscheinliche (Hinweise auf die Abwesenheit von Einflüssen auf bestimmte biologische Parameter) und nicht beurteilbare (nur Studien mit wenig Aussagekraft vorhanden) Effekte (RÖÖSLI ET AL., 2003). Die derzeit für die Exposition mit elektromagnetischer Strahlung geltenden Grenzwerte basieren ausschließlich auf wissenschaftlich gesicherten Effekten. Die Höhe der Grenzwerte wurden mit einem Risikofaktor von 50 für die Allgemeinbevölkerung und von 10 für beruflich exponierte Personen abgesichert, d.h. die Grenzwerte liegen um das 50- bzw. zehnfache niedriger als der Wert, bei dem ein gesicherter Effekt nachgewiesen werden konnte (STEPANSKY ET AL., 2000). Von der World Health Organization (WHO) wurde 1996 ein internationales Projekt ins Leben gerufen, dass sich mit Effekten und möglichen Auswirkungen von elektromagnetischen Feldern auf die Gesundheit beschäftigt. Im Rahmen dieses Projektes wurden biologische Effekte als physiologische Reaktion auf die Exposition mit elektromagnetischer Strahlung definiert, wobei die Effekte Auswirkungen haben müssen, die außerhalb der normalen biologischen Varianz liegen. Bei der

Beurteilung von Studien, die diese potentiellen biologischen Effekte untersuchen, wird großer Wert auf die Reproduzierbarkeit der Studien gelegt (REPACHOLI, 2001).

Bei Untersuchungen an menschlichen Probanden kommt es bei der Versuchsplanung zu ethischen Konflikten zwischen Wissensdurst und der Tatsache, dass Belastungen jeglicher Art nie zu langfristigen gesundheitlichen Schäden führen dürfen. Zudem ist eine gleichmäßige Exposition bei menschlichen Probanden sehr schwierig bis gar nicht zu erreichen. Versuche zu chronischen Belastungen mit eventuellen gesundheitsschädlichen Folgen bedürfen daher weiterhin der Hilfe von Tierversuchen.

Bei der Beurteilung von Auswirkungen elektromagnetischer Strahlung ist immer eine Unterscheidung zwischen Ganzkörper- und Teilkörperexposition zu treffen. Hinsichtlich der Energieabsorption durch den menschlichen Körper können nach DURNEY ET AL. (1985) elektromagnetische Felder in vier Bereiche unterteilt werden:

1. Frequenzen von rund 100 kHz bis weniger als rund 20 MHz, bei denen die Absorption im Rumpf bei abnehmender Frequenz rapide abnimmt und eine beträchtliche Absorption in Hals und Beinen auftreten kann;
2. Frequenzen im Bereich von ungefähr 20 MHz bis 300 MHz, bei denen eine relativ hohe Absorption im ganzen Körper auftreten kann; sie können zu noch höheren Werten führen, wenn Teilkörperresonanzen (z. B. Kopf) berücksichtigt werden;
3. Frequenzen im Bereich von ungefähr 300 MHz bis zu mehreren GHz, bei denen eine beträchtliche lokale, ungleichmäßige Absorption auftritt
4. Frequenzen über rund 10 GHz, bei denen eine Absorption vor allem an der Körperoberfläche auftritt.

Die folgenden Absätze sollen einen kurzen Einblick über die im Bereich der biologischen Auswirkungen und potentiellen Gesundheitsgefährdungen durch elektromagnetische Felder mit Frequenzen von 100 kHz bis 300 GHz relevante Literatur geben.

Ein gesicherter Effekt hochfrequenter elektromagnetischer Strahlung ist der thermische Effekt, der durch die Absorption energiereicher Strahlung zustande kommt. Es liegen mehrere Untersuchungen über wärmeregulierende Reaktionen von in Ruhe befindlichen Probanden vor, die elektromagnetischen Feldern in der

Magnetresonanztomographie ausgesetzt waren (SHELLOCK UND CRUES 1987; MAGIN ET AL., 1992). Im allgemeinen wurde durch diese Studien nachgewiesen, dass eine bis zu 30-minütige Exposition unter Bedingungen, in denen der Ganzkörper-SAR-Wert unter 4 W kg^{-1} lag, einen Anstieg der Kerntemperatur des Körpers unter 1°C bewirkte.

Es gibt Hinweise auf einen Einfluss elektromagnetischer Strahlung auf das Fortpflanzungsgeschehen. Diesen Untersuchungen mangelt es aber häufig an einer präzisen Abschätzung der tatsächlichen Exposition und in vielen Fällen weisen die Untersuchungen eine sehr geringe Anzahl an Versuchspersonen auf. Insgesamt ist es aber - trotz der im Allgemeinen negativen Ergebnisse dieser Studien - schwierig, eine endgültige Aussage über das von elektromagnetischer Strahlung ausgehende Risiko auf das Fortpflanzungsgeschehen zu treffen. In einer Studie über Kunststoffschweißerinnen und Physiotherapeuten, die mit Kurzwellen-Diathermiegeräten arbeiteten, gab es keine statistisch signifikanten Auswirkungen hinsichtlich der Zahl der Abgänge oder Mißbildungen beim Fötus (KÄLLEN ET AL., 1982). Dagegen fand man in anderen Untersuchungen an ähnlichen Zahlen von Arbeitnehmerinnen ein erhöhtes Risiko an Fehlgeburten und Geburtsfehlern (LARSEN ET AL., 1991; OUELLET-HELLSTROM UND STEWART 1993). In einer an der Jacobs Universität in Bremen durchgeführten Langzeitstudie an Labornagern unter UMTS-Bestrahlung konnte ebenfalls kein signifikanter Einfluss der Langzeitexposition auf Prozesse der Fortpflanzung und die Entwicklung der Nachkommen in vier aufeinanderfolgenden Tiergenerationen, die während der gesamten Untersuchungszeit durchgehend befeldet waren, festgestellt werden (BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2008).

RADON ET AL. (2001) stellten keinen Einfluss eines von Mobiltelefonen emittierten Elektromagnetfeldes auf die menschliche Speichelkortisolkonzentration sowie deren Rhythmik fest. Die Studie von DE SEZE ET AL. (1998) konnte keine pathologischen Veränderungen in der Hormonsekretion beim Menschen unter chronisch-intermittierender GSM-Belastung über vier Wochen nachweisen. Ebenso fanden DJERIDANE ET AL. (2008) heraus, dass die Benutzung (zwei Stunden pro Tag, fünf Tage pro Woche über insgesamt vier Wochen) eines Mobilfunkgerätes (GSM, 900 MHz) keinen Effekt auf die endokrinen Funktionen (Prolaktin, Thyroidea-Stimulierendes Hormon, Adrenokortikotropin, Testosteron, Wachstumshormon, Kortisol) der 20 männlichen Probanden hatte.

In einer Studie von MANN ET AL. (1998b) wurde kein signifikanter Einfluss eines pulsierenden Hochfrequenz-Elektromagnetfeldes auf die menschliche Gehirnaktivität (während des Schlafes) sowie die nächtlichen Hormonkonzentrationen von Cortisol, Wachstumshormon, luteinisierendes Hormon und Melatonin dokumentiert. Dennoch unterschieden sich die Serum-Kortisolkonzentrationen und der zeitliche Konzentrationsverlauf während der jeweils ersten und letzten Stunde der Dunkelphase unter Magnetfeld-Exposition signifikant von den Kontrollgruppen. Auch waren die REM-Schlafdauer und -Häufigkeit unter Magnetfeld-Exposition geringer sowie die Zeitspanne zwischen aufeinander folgenden REM-Phasen länger als unter Kontrollbedingungen. Ältere Untersuchungen an Ratten konnten unter Anwesenheit eines elektromagnetischen Feldes hingegen eine Stimulation der Nebennierenrindenaktivität (z.B. LAI ET AL., 1990), sowie eine Unterdrückung der pinealen Aktivität (REITER UND RIACHRDSON, 1992; KATO ET AL., 1993; YELLON, 1994) dokumentieren. In einer weiteren Studie konnte während des Schlafes kein Einfluss eines pulsierenden Hochfrequenz-Elektromagnetfeldes auf die Herzfrequenz des Menschen festgestellt werden (MANN ET AL., 1998a). Demnach wurde die sympathisch/parasympathische Regulation der Herzfrequenz nicht beeinflusst. Diese Arbeitsgruppe limitierte die Aussagekraft jedoch auf ihre experimentellen Bedingungen, so dass diese Ergebnisse nicht generalisiert und auf beispielsweise ältere Personen oder Patienten mit kardiovaskulären bzw. neuroendokrinen Erkrankungen übertragen werden können. Frühere Studien dieser Gruppe zeigten dagegen eine Verkürzung der Einschlafdauer, sowie eine Verkürzung der REM-Schlafphase (MANN UND RÖSCHKE, 1996), während das EEG im wachen Zustand nicht durch die Anwesenheit eines elektromagnetischen Feldes beeinflusst wurde (RÖSCHKE UND MANN, 1997).

Einige neuere Untersuchungen über Bevölkerungsgruppen, die in der Nähe von Sendemasten für elektromagnetische Strahlung leben, lassen einen lokalen Anstieg von Leukämiefällen vermuten (HOCKING ET AL., 1996). Andere Berichte legen nahe, dass die Exposition von Nagetieren mit Mikrowellenfeldern mit SAR-Werten in der Größenordnung von 1 W kg⁻¹ zu DNA-Strangbrüchen in den Hoden und im Hirngewebe führen kann (SARKAR ET AL., 1994; LAI UND SINGH, 1995; LAI UND SINGH 1996). In einer Großuntersuchung an Ratten, die bis zu 25 Monate lang Mikrowellen ausgesetzt waren, wurden im Verhältnis zu den Kontrollen ein Übermaß an bösartigen Primärtumoren festgestellt (CHOU ET AL., 1992). Das Auftreten von

gutartigen Tumoren war allerdings innerhalb der Gruppen nicht unterschiedlich, und es gab keine spezifische Tumorart, die in der exponierten Gruppe stärker vorherrschte als bei den Ratten, die zum selben Stamm gehörten und unter ähnlichen spezifisch-pathogenfreien Bedingungen gehalten wurden. Insgesamt gesehen können die Ergebnisse dieser Untersuchung nicht dahingehend ausgelegt werden, dass sie auf eine tumorauslösende Wirkung von Mikrowellenfeldern schließen lassen.

4. Stressgeschehen allgemein und Stressparameter bei der Ratte

4.1 Allgemeines zum Stressgeschehen

Auf jeden Organismus wirken permanent äußere Einflüsse ein, die zu einer Störung des inneren Gleichgewichtes führen können. Durch koordinierte Regulationsmechanismen werden die inneren Bedingungen eines Körpers aber weitgehend in engen Grenzen gehalten. Kann ein Organismus diese für ihn optimalen Voraussetzungen nicht weiter aufrecht erhalten, kommt es zu Stoffwechselentgleisungen (BAMBERG, 1987).

Der Begriff „Stress“ wurde 1976 von SELYE als eine unspezifische Reaktion des Körpers auf Einwirkungen aus der Umgebung definiert. Eine Stressreaktion dient generell dazu, die Überlebenschance eines Organismus zu erhöhen, indem es die Aufmerksamkeit, die Muskelreflexe und die Schmerzschwelle erhöht und den Appetit und die sexuelle Erregbarkeit reduziert (PETRIDES, 1998; CARRASCO UND VAN DE KAR, 2003). Das auslösende Moment für eine derartige Stressreaktion wird als „Stressor“ bezeichnet (SELYE, 1976). Stressoren lassen sich in drei Gruppen einteilen: 1. Psychologische Stressoren (z.B. Angst) 2. Stressoren, die aus einer von außen einwirkenden physikalischen Komponente bestehen, aber eine starke psychologische Komponente haben (z.B. Schmerzen) und 3. Stressoren, die zu einer Beeinflussung der kardiovaskulären Homöostase oder zu einem Eingriff in den Kortikosteroidhaushalt führen (z.B. Blutungen, Hitze, Morbus Cushing, Lebererkrankungen) (VAN DE KAR UND BLAIR, 1999, TYRELL ET AL., 1994). Eine Einteilung des Stesses kann auch in neurogenen und in systemischen Stress erfolgen. Beim neurogenen Stress erfolgt eine Weiterleitung der Reize (z.B. Lärm, Licht) über Neuronen zum Hypothalamus, beim systemischen Stress erfolgt die

Weiterleitung der Reize (z.B. Hypoglykämie, Adrenalin) über den Blutkreislauf (BAMBERG, 1987).

Bei einer Stressantwort handelt es sich generell um ein stereotypes Muster physiologischer Reaktionen, bei denen das Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierensystem und das sympathische Nervensystem eine Schlüsselfunktion innehat. Diese Reaktion wird auch als allgemeines Adaptionssyndrom bezeichnet (PETRIDES, 1998). Stressoren bewirken im Organismus über neurale Impulse eine Stimulierung der Corticoliberinfreisetzung (Corticotropin-Releasing-Hormone, CRH) aus dem Hypothalamus in das hypothalamische-hypophysäre Pfortadersystem. Corticoliberin führt zu einer vermehrten Freisetzung des Adrenocorticotrope Hormons (ACTH) aus der Hypophyse in die Blutbahn. ACTH wird in den basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens produziert und führt zu einer Hyperämie der Nebenniere und in der Nebennierenrinde zu einer vermehrten Synthese von Glukokortikoiden (TAUSK, 1979; PENZLIN, 1996; PRÉLAUD ET AL., 2005). Der Anstieg der Glukokortikoide im Blut hemmt die ACTH-Freisetzung im Hypophysenvorderlappen und die Kortikoliberin-Ausschüttung im Hypothalamus, wodurch die Synthese und Ausschüttung von ACTH verringert wird (BAMBERG, 1987; PENZLIN, 1996; PRÉLAUD ET AL., 2005).

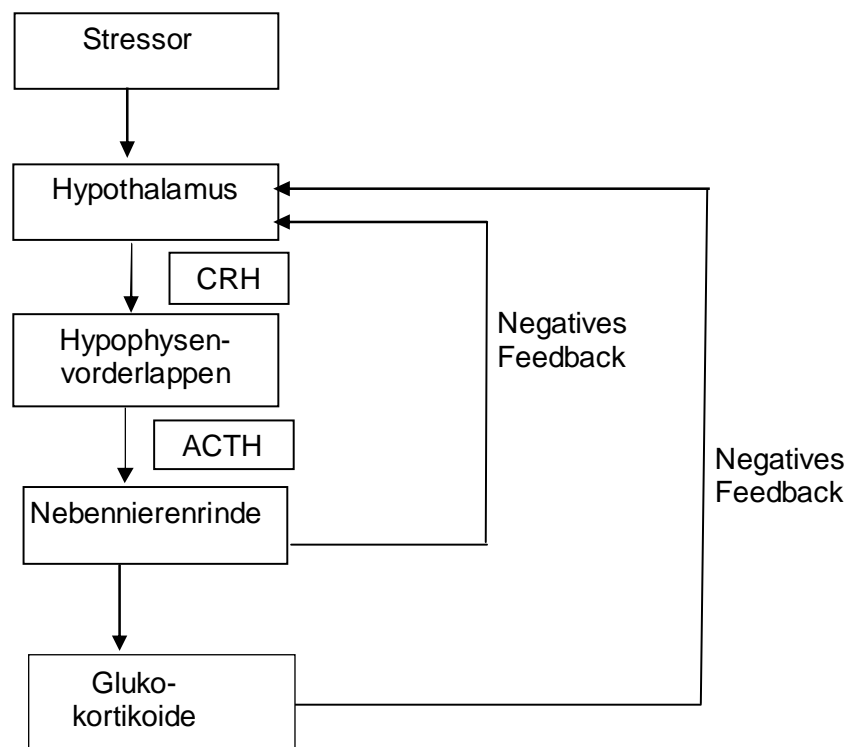


Abb. 1: Schematische Darstellung des Stressgeschehens

Kortikosteroide sind in der Lage viele Stoffwechselvorgänge zu beeinflussen. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Stimulation der Proteolyse, die Hemmung des Wachstums einiger Zelltypen (besonders der Fibroblasten) und der spezifischen und unspezifischen Immunantwort, die Verringerung des peripheren Glucoseverbrauches sowie die Stimulation der Gluconeogenese (MÖSTL, 2000; PRÉLAUD ET AL., 2005). Die Ausschüttung von Kortikosteroiden wird maßgeblich durch drei Mechanismen reguliert: 1. durch die zirkadiane Rhythmik der ACTH- Ausschüttung, 2. durch vermehrte Kortikosteroidsekretion als Antwort des Hypothalamus auf ein Stressgeschehen und 3. durch die durch Kortikosteroide ausgelöste Hemmung der ACTH-Sekretion und damit auch Hemmung der Kortikosteroid-Ausschüttung (TYRELL ET AL., 1994).

In Folge der Stressantwort werden auch andere Hormone und Mediatoren wie die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin, β -Endorphine (Vorläufersubstanz des ACTHs), Oxytocin, Prolactin und Renin vermehrt ausgeschüttet (BAMBERG, 1987; PETRIDES, 1998; VAN DE KAR UND BLAIR, 1999; MÖSTL, 2000; CARRASCO UND VAN DE KAR, 2003).

4.2 Stressparameter bei der Ratte

Bereits die klinische Beurteilung des Versuchstiers Ratte kann Hinweise auf eine Stress-Situation geben. Generelle klinische Anzeichen für Stress oder auch Schmerz sind am Herz-Kreislauf-System (z.B. Herzfrequenz, verminderte periphere Zirkulation, Blutdruck), der Körpertemperatur, dem Körpergewicht, der Atmung (z.B. Atemfrequenz und -tiefe), dem Gastrointestinaltrakt (z.B. Diarrhoe, Speichelfluss) und dem Bewegungsapparat (z.B. Zittern, Hyperästhesie) zu erkennen. Auch die Beobachtung des Verhaltens der Ratte (z.B. Vokalisation, zusammengekrümmtes Sitzen, Fehlen von Erkundungsverhalten, Chromodacryorrhoe) gibt Aufschluss über das Wohlbefinden des Tieres und gibt Hinweise auf eine Stress-Situation (NATELSON ET AL., 1987; BERNATZKY, 1997; WOLFENSOHN UND LLOYD, 1998).

Um die Stress-Situation einer Ratte noch genauer zu erfassen, können verschiedene Blutparameter, die im Rahmen der Stressantwort ausgeschüttet werden, quantitativ erfasst werden und Aufschluss über das Ausmaß der Stress-Situation geben. Zu diesen Parametern zählen die Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin), β -Endorphine (Vorläufersubstanz des ACTHs), Oxytocin, Prolactin und Renin

(BAMBERG, 1987; HAEMISCH ET AL., 1999; VAN DE KAR UND BLAIR, 1999; PETRIDES, 1998; MÖSTL, 2000; CARRASCO UND VAN DE KAR, 2003). Weitere in der Literatur zur Stresserfassung verwendete und beschriebene Parameter sind die Lymphozyten, ACTH, Glucose (DE BOER ET AL., 1990; STEFANSKI, 2000; MAHL ET AL., 2000; RAFF ET AL., 2004; MÁRQUEZ ET AL., 2004; VAHL ET AL., 2005; CAR ET AL., 2006) und IgA (PIHL UND HAU, 2003; ERIKSSON ET AL., 2004; ROYO ET AL., 2004).

Aufgrund der Tatsache, dass das Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierensystem im Stressgeschehen eine entscheidende Rolle spielt, wird zur Beschreibung des Stressgeschehens der Ratte in der Literatur häufig Kortikosteron als Parameter herangezogen (GÄRTNER ET AL., 1980; DE BOER ET AL., 1990; MÖSTL, 2000; PIHL UND HAU, 2003; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003; RAFF ET AL., 2004; LEPSCHY ET AL., 2007). Das Kortikosteron ist bei der Ratte und Maus das entscheidende Glukokortikosteroid (BAMBERG, 1987; MAHL ET AL., 2000). Bei der Bestimmung des Kortikosterons aus Blut ergeben sich Nachteile durch das geringe Blutvolumen der Ratte und durch die zur Probengewinnung nötige Manipulationen (GÄRTNER ET AL., 1980; MORTON ET AL., 1993; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999; VAHL ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007). Ein genereller Nachteil der Bestimmung von Kortikosteron als Stressparameter ist, dass die Konzentrationsänderung des Kortikosterons von der Art des Stressors beeinflusst werden kann (RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003) und dass Kortikosteron für mittelschwere und schwere Stressoren ein ungeeigneter Parameter ist, da die Antwort der Nebenniere auf ACTH durch einen mittleren ACTH-Spiegel im Blut erschöpft wird (MÁRQUEZ ET AL., 2004).

5. Kortikosteron

5.1 Synthese und Metabolisierung des Kortikosterons

Die Synthese von Kortikosteron findet in hohem Maße in der Zona fasciculata und in geringem Ausmaß in der Zona reticularis der Nebennierenrinde statt (TYRELL ET AL., 1994; BIGLIERI ET AL., 1994; PRÉLAUD ET AL., 2005). Da die Nebennierenrinde keine größeren Mengen an Steroidhormonen speichern kann, wird bei erhöhtem Bedarf sowohl die Biosynthese als auch die Sekretion der Steroide durch ACTH stimuliert (BAMBERG, 1987). Die Ausgangssubstanz für die Synthese aller Steroidhormone im Organismus bildet Cholesterol (PETRIDES, 1998; STRYER, 1999). Cholesterol entsteht

zum größten Teil durch Neusynthese über mehrere Zwischenschritte (Mevalonsäure, Isopentenylidiphosphat, Squalen) aus Acetyl-Coenzym A. Acetyl-Coenzym A wird beim Abbau von Fettsäuren und Pyruvat (Endprodukt der Glykolyse) in den Mitochondrien gebildet (BAMBERG, 1987; LÖFFLER, 1998a). Bei der Ratte ist die Leber der Hauptsyntheseort des Cholesterols. Andererseits kann Cholesterol aus Low-density-Lipoproteinen mit der Nahrung aufgenommen werden (LÖFFLER, 1998b).

Bei der Synthese des Kortikosterons wird zunächst eine aus sechs Kohlenstoffatomen bestehende Einheit aus der Seitenkette des Cholesterols entfernt, wodurch Pregnenolon entsteht (STRYER, 1999). Dieser Syntheseschritt findet im Mitochondrium statt und wird enzymatisch katalysiert. Die Stimulation dieses Syntheseschrittes erfolgt durch ACTH und die Geschwindigkeit der Kortikosteroidsynthese wird durch diesen Schritt maßgeblich bestimmt. Die weiteren Syntheseschritte laufen im Zytoplasmatischen Retikulum des Zytosols ab (PETRIDES, 1998). In den folgenden zwei Umwandlungsschritten entsteht aus Pregnenolon das Progesteron. Durch eine Hydroxylierung des Progesterons am C-21 entsteht aus Progesteron 11-Deoxykortikosteron. In einem weiteren Synthese-Schritt erfolgt durch die Hydroxylierung am C-11 die Umwandlung zu Kortikosteron (BAXTER, 1994; TYRELL ET AL., 1994; AGARWAL UND MIRSHAHI, 1999; STRYER, 1999).

Zum Transport im Blut werden Glukokortikoide an Plasmaproteine wie Transcortin und Albumin gebunden. Das gebundene Hormon stellt eine Speicherform da und ist biologisch inaktiv (TYRELL ET AL., 1994; MÖSTL, 2000).

Der Abbau der Glukokortikoide erfolgt hauptsächlich in der Leber, aber auch in einigen anderen Geweben (z.B. Lunge, Niere, Gonaden). Die Abbauprodukte werden als Konjugate (Sulfate oder Glukonate) über die Nieren und über den Kot ausgeschieden (BAMBERG, 1987; TYRELL ET AL., 1994; PETRIDES, 1998; MÖSTL, 2000; PALME ET AL., 2005).

5.2 Probenmaterialien zum Kortikosteronnachweis und Entnahmetechniken

Die Bestimmung des Stresshormones Kortikosteron kann aus verschiedenen Körperflüssigkeiten und Ausscheidungsprodukten erfolgen: aus Milch, Speichel, Kot, Urin und Blut (MÖSTL UND PALME, 2002; MORMEDÉ ET AL., 2007).

Zur Bestimmung der Kortikosteronkonzentration findet bei der Ratte als Probenmaterial Blut (NATELSON ET AL., 1981; NATELSON ET AL., 1987; DE BOER ET AL.,

1990; VAHL ET AL, 2005; RAFF ET AL., 2007), Urin und Kot (BAMBERG ET AL., 2001; PIHL UND HAU, 2003; CAVIGELLI ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007) Verwendung. Bei anderen Tierarten ist die Bestimmung von Kortikosteroiden aus Speichel (BUSHONG ET AL., 2000; GLIDDON ET AL., 2003; NEGRAO ET AL., 2004) und Milch (WENZEL ET AL., 2003; NEGRAO ET AL., 2004; Fukasawa et al., 2008) beschrieben.

Die Gewinnung des Probenmaterials Blut kann auf unterschiedliche Arten erfolgen: über ein Entfernen der distalen Schwanzspitze, über Einschnitte an den lateralen Schwanzseiten, über Dekapitation, über die Punktion des Herzens oder über Blutentnahmen aus der Vena jugularis, den Vv. coccygeae, der V. saphena, aus dem retrobulbären Venenplexus, der sublingualen Vene und verschiedenen anderen Venen und Arterien mittels Kanülen oder permanent installierter Katheter (COCCHETTO UND BJORNSSON, 1983; MORTON ET AL., 1993; CARLBERG ET AL., 1995; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999; MAHL ET AL., 2000; THRIVIKRAMA ET AL., 2002; WEISS ET AL., 2003; VAHL ET AL, 2005). Bei der Entscheidung über die Art der Blutentnahme werden verschiedenen Kriterien berücksichtigt: 1. die Qualität des gewünschten Blutes (z.B. arteriell/venös, sterile/unsterile Entnahme, eventuell auftretende Verunreinigungen bei Dekapitation und Kappen der Schwanzspitze), 2. die Entnahmefrequenz (einmalige/mehrmalige Entnahme, Zeitabstände zwischen den jeweiligen Entnahmezeitpunkten), 3. die Menge des für die gewünschten Untersuchungen benötigten Blutvolumens und 4. ob es sich um eine terminale Blutentnahme handelt. Bei terminalen Blutentnahmen finden die Dekapitation, die Punktion des Herzens und die Punktion großer abdominaler Blutgefäße (z.B. Aorta, V. cava) Anwendung (MORTON ET AL., 1993; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999). Zu wiederholten Blutentnahmen in kurzen Zeitabständen eignen sich Dauerkatheter, fixierte Butterfly-Kanülen oder die mehrfache Punktion der Schwanzvenen (MORTON ET AL., 1993; SHARP UND LA REGINA, 1998; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999; DIEHL ET AL., 2001). DIEHL ET AL. (2001) führen an, dass durch ein Anwärmen des Schwanzes ein Blutvolumen von bis zu zwei Milliliter aus den Vv. coggygeae bei der Ratte gewonnen werden kann.

Das Blutvolumen einer Ratte beträgt ungefähr 50 bis 70 ml/kg Körpergewicht. Das Blutvolumen, das bei einer einzigen Blutentnahme entnommen werden darf, sollte 10 Prozent des zirkulierenden Blutvolumens nicht überschreiten. Einer Ratte sollte an einem Tag maximal 1,8 ml Blut pro 300 g Körpermasse entzogen werden. Die Regenerationszeit nach dem Blutverluste von 1,8 ml Blut beträgt ungefähr zwei

Wochen (MORTON ET AL., 1993; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999). Die Halbwertszeit des Kortikosterons im Blut beträgt ungefähr 60 Minuten (HAEMISCH ET AL., 1999). Nicht nur das geringe Blutvolumen der Ratte stellt einen limitierenden Faktor für Blutuntersuchungen bei der Ratte da, sondern auch die Tatsache, dass alleine durch die zur Blutentnahme nötigen Manipulationen ein Anstieg der Kortikosteronkonzentration bewirkt werden kann und die Blutentnahme in maximal drei Minuten - gemessen ab dem Zeitpunkt des Herausnehmens aus dem Käfig - abgeschlossen sein sollte (GÄRTNER ET AL., 1980; VAHL ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007). HAEMISCH ET AL. (1999) stellten fest, dass bei vier Blutentnahmen innerhalb von zwei Stunden die Kortikosteronkonzentration zunächst nach der ersten Blutentnahme aus den Schwanzvenen ansteigt, innerhalb dieser zwei Stunden trotz weiterer Blutentnahmen aber wieder auf den Basalwert abfällt.

BAMBERG ET AL. (2001) stellten fest, dass bei der Ratte $80,3 \pm 3,9$ % von radioaktiv-markierten Kortikosteron-Metaboliten mit dem Kot und $19,7 \pm 3,9$ % mit dem Urin ausgeschieden werden. Im Jahr 2007 kamen LEPSCHY ET AL. zu dem Ergebnis, dass bei der Ratte $74,8 \pm 9,2$ % der Kortikosteron-Metaboliten den Körper über den Kot und $25,2 \pm 9,2$ % über den Urin verlassen. Zur Gewinnung von Urin von Ratten als Probenmaterial sind in der Literatur verschiedene Möglichkeiten beschrieben: Auffangen des Urins in Stoffwechselkäfigen (BAMBERG ET AL., 2001; ERIKSSON ET AL., 2004), manuelles Ausdrücken der Blase, Zystozentese, Zystotomie, Katheterisierung und verschiedene Auffangvorrichtungen (HOY UND ADOLPH, 1956; COCCHETTO UND BJORNSSON, 1983; KURIEN ET AL., 2004). Die Gewinnung des Urins ist bei der Ratte aufwendiger und kostenintensiver als die Gewinnung von Kot oder die Gewinnung von Urin bei anderen Tierarten. Die Gründe für den höheren Aufwand und die höheren Kosten ergeben sich aus der geringen Körpergröße der Ratte und den zur Uringewinnung speziell notwendigen Apparaturen und Käfigen, die ihrerseits selbst einen Stressfaktor darstellen können und an welche die Tiere im Versuchsvorfeld gewöhnt werden müssen (BAMBERG ET AL., 2001; ERIKSSON ET AL., 2004). Die Gewinnung von Kot ist durch einfaches Aufsammeln aus den Versuchskäfigen oder durch Stoffwechselkäfige möglich (BAMBERG ET AL., 2001; PIHL UND HAU, 2003; ERIKSSON ET AL., 2004; LEPSCHY ET AL., 2007). MILLSPAUGH UND WASHBURN (2003) führen an, dass bis zur weiteren Klärung der Einflüsse von Alter, Fütterung, Kotabsatzfrequenz, Kotmenge des einzelnen Versuchstieres, körperliche Verfassung und weiteren Parametern die Interpretation der Kortikosteroidmetaboliten im Kot

schwierig bleiben wird. CAVIGELLI ET AL. (2006) stellten fest, dass durch im Rahmen der Tierpflege hervorgerufene Störungen der Tiere eine Erhöhung der Kortikosteroidmetaboliten im Kot hervorgerufen wird. Sie sind der Auffassung, dass das Aufsammeln von Kot eine geeignete Methode ist, die Reaktionen der Hypophysen-Nebennieren-Achse über einen längeren Zeitraum zu verfolgen. Das Sammeln des Kotes sollte bis 24 Stunden nach dem Stressereignis fortgesetzt werden. Bei der Bestimmung der Kortikosteroidmetaboliten aus dem Kot ist zudem in der Regel keine Untersuchung individueller Unterschiede möglich.

Durch die Gewinnung von Kot und Urin mittels Stoffwechselkäfigen als Probenmaterial zur Kortikosteronbestimmung entfällt die Notwendigkeit der Manipulation der Versuchstiere zur Probengewinnung und wird die Beurteilung des Stressgeschehens über einen längeren Zeitraum ermöglicht im Gegensatz zu einer zeitlich sehr begrenzten Beurteilung bei der Blutentnahme (BAMBERG ET AL., 2001; PIHL UND HAU, 2003; CAVIGELLI ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007).

5.3 Nachweismethoden des Kortikosterons im Blut und Referenzwerte

Zum Nachweis des Kortikosterons im Blut wurden in bisher durchgeführten Studien Radio-Immun-Assays (RIA) (Takahashi et al., 1998; HAEMISCH ET AL., 1999, VAHL ET AL., 2005; KEAY ET AL., 2006; RAFF ET AL., 2007), High-Performance Liquid Chromatography (OKA ET AL., 1987; LING UND JAMALI, 2003; KEAY ET AL., 2006) und die Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (JANZEN ET AL., 2000) angewandt.

Die Referenzwerte für Basalkonzentration des Kortikosterons variieren in der Literatur. VAHL ET AL. (2005) ermittelten als Kortikosteronwert für Ratten, die zwischen 8.30 Uhr und 9.30 Uhr ohne vorangehende Betäubung dekapitiert wurden, einen Kortikosteronwert von $9,3 \pm 3,8$ ng/ml. Bei Tieren, denen das Blut aus der Schwanzvene entnommen wurde, konnte von VAHL ET AL. (2005) ein Basis-Kortikosteronwert von $34,0 \pm 7,9$ ng/ml festgestellt werden. LEAL ET AL. (1995) geben als Basalwert für 8.00 Uhr morgens 18 ± 3 nmol/l (entspricht $6,23 \pm 1,04$ ng/ml) nach Dekapitation an.

Die Referenzwerte für die maximalen Kortikosteronkonzentrationen bei der Ratte variieren ebenfalls in der Literatur bzw. werden häufig die Werte der Maximalkonzentrationen nicht expliziert mit angeführt, wenn die Area under the curve

(AUC) als Untersuchungsgröße verwendet wird. VAHL ET AL. (2005) gibt Maximalwerte von $470,3 \pm 37,0$ ng/ml bei Blutentnahme aus dem Schwanz und $414,3 \pm 45,4$ ng/ml bei Blutentnahme über einen Venenkatheter an. LEAL ET AL. (1995) geben als Maximalwert im zirkadianen Verlauf 260 ± 35 nmol/l (entspricht $89,97 \pm 12,11$ ng/ml) für ungestresste Tiere und 286 ± 55 nmol/l (entspricht $98,96 \pm 19,03$ ng/ml) bei Tieren mit reduziertem Futterangebot, nach 30 Minuten Immobilisationsstress wurden Werte von bis zu 711 ± 101 nmol/l (entspricht $246,02 \pm 34,94$ ng/ml) bei der Gruppe mit ad libitum Fütterung und 832 ± 113 nmol/l (entspricht $287,89 \pm 39,10$ ng/ml) bei der Gruppe mit reduziertem Futterangebot gemessen.

Grundsätzlich ist es von Bedeutung, dass bei jeder Versuchsreihe zusätzlich eine Kontrollgruppe mit untersucht wird, die unter gleichen Bedingungen, aber ohne Einwirkung eines exogenen Stressors, gehalten wird.

5.4 Chronische Stressbelastung und ACTH-Test

KOOLHAAS ET AL. (1995) definieren chronischen Stress als den Zustand eines Lebewesens, in dem umweltbedingte Aspekte eine niedrige Vorhersagbarkeit haben und/oder über einen lange Zeit nicht oder schlecht kontrolliert werden können. Chronischer Stress lässt sich unterteilen in einen kontinuierlichen (ein Stressor wirkt den gesamten Tag auf das Versuchstier ein) und einen intermittierenden (ein Stressor wirkt jeden Tag für einige Minuten bis mehrere Stunden auf das Versuchstier ein) chronischen Stress (MARTI UND ARMARIO, 1998). Im Falle einer chronischen Stressbelastung können drei verschiedene Phasen, die nacheinander ablaufen, unterschieden werden: die Alarmphase, das Widerstandsstadium und die Erschöpfungsphase (KOOLHAAS ET AL., 1995). Im Widerstandsstadium kommt es zu einer erhöhten Ausschüttung von Glukokortikosteroiden und es kommt im Laufe einer chronischen Stressbelastung zu einer Hypertrophie der Nebenniere (ISHIKAWA ET AL., 1995; KOOLHAAS ET AL., 1995; PELLEGRINI ET AL., 1998). Unter chronischen Bedingungen kann Stress von einer physiologischen Reaktion in eine maladaptive Belastung mit einer schädigenden Wirkung auf viele Körperfunktionen (wie z.B. das Immunsystem) übergehen (MUNCK ET AL., 1984; COHEN ET AL., 1991). Bei chronischer Belastung, z.B. Dauerexposition im elektromagnetischen Feld, ist von einer permanent erhöhten Aktivität der Nebenniere auszugehen und der Organismus

reagiert auf einen exogenen Stressor mit erhöhter Kortikostersonausschüttung. Die erhöhte Serumkonzentration hält auch länger an (BORELL UND LADEWIG, 1986; REDBO. 1992; ROBIA, 1998). Chronisch erhöhte Glukokortikoidkonzentrationen haben schädigende Effekte, wie bei Patienten mit Cushing-Syndrom und als Ergebnis lang anhaltender Steroidbehandlung mehrfach nachgewiesen wurde (STARKMAN ET AL., 1992, SECKL UND OLSSON, 1995; LUPIEN UND MCEWEN, 1997). Nach WENZEL ET AL. (2002) steigen unter dem Einfluss eines hochfrequenten-elektromagnetischen Feldes von Mobilfunkantennen die Kortisolkonzentrationen im Speichel von Rindern nach ACTH-Applikation im Vergleich zu einer unbelasteten Kontrollgruppe deutlicher an und fallen langsamer wieder ab.

Der ACTH-Stimulationstest, dient zur Feststellung einer geänderten Nebennierenrindenaktivität. Der ACTH-Stimulationstest wird in der Tiermedizin zur Diagnose des Hypo- und Hyperadrenokortizismus und zur Therapiekontrolle des Hyperadrenokortizismus herangezogen (KRAFT, 2005).

Zur Durchführung eines ACTH-Stimulationstests wird dem zu untersuchenden Tier eine Standarddosis synthetischen ACTHs (z.B. Synacthen®, Wirkstoff: Tetracosactid-hexaacteta) intramuskulär, intraperitoneal oder intravenös injiziert (Dosierung: Hund: 0,25 mg/Hund, Katze: 0,125 mg/Katze). Die Standarddosis ACTH gleicht dabei dem Einwirken eines akuten Stressors. Im Verlauf des ACTH-Tests erfolgt eine Blutentnahme vor der Injektion und weitere in bestimmten Abständen nach ACTH-Injektion (Hund: 60 Minuten nach Injektion, Katze: 30 und 60 Minuten nach Injektion). Aus den Blutproben werden im Anschluss die Kortisol-Werte bestimmt (KRAFT, 2005). Bei der Ratte werde in der Literatur für Synacthen® verschiedene Dosierungen zur Stimulation der Nebennierenrinde angegeben: 0,5 und 1,5 µg/kg Körpergewicht (KAMPHUIS et al., 2002), 20 µg/kg Körpergewicht (RAFF ET AL., 2004), 0,02 mg/100 g Körpergewicht (entspricht 200 µg/kg Körpergewicht) (HALLER, 1969), 3 ng/Ratte (entspricht 3000 µg/Ratte) (SAGE ET AL., 2002; HESKETH ET AL., 2007), und 100 µg/kg Körpergewicht (FRASER ET AL., 2001; HINSON ET AL., 2001). Da die Sekretion von ACTH und Kortikosteroiden einem zirkadianen Rhythmus unterliegt und stressanfällig ist, hat die Einhaltung eines immer gleichen Zeitplanes und die Vermeidung von Stress bei der Versuchsdurchführung einen hohen Stellenwert (KRAFT, 2005).

5.5 Endogene Einflüsse auf die Kortikosteronkonzentration und weitere biologische Parameter

5.5.1 Alter

Es gibt in der Literatur Hinweise darauf, dass das Alter einen Einfluss auf den Kortikosteronspiegel haben könnte. CANO ET AL. (2008) kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass bei älteren Ratten (22 Monate) ein signifikant niedrigerer Kortikosteronspiegel im Vergleich zu jungen Tieren (3 Monaten) auftritt. Andererseits gibt es auch Studien, die eine derartige Veränderung im Alter nicht bzw. im Gegenteil sogar einen erhöhten Glukokortikoidspiegel nachweisen konnten (SONNTAG, 1987; ISSA ET AL., 1990; SCACCIAOCE ET AL., 1990; SECKL UND OLSSON, 1995; SCACCIAOCE ET AL., 1995). Insgesamt ist also ein gewisser Einfluss des Alters auf die Kortikosteronkonzentration im Blut nicht sicher zu bestätigen, aber auch nicht vollständig auszuschließen.

5.5.2 Erkrankungen anderer Organsysteme

Der Abbau der Glukokortikoide erfolgt hauptsächlich in der Leber, aber auch in einigen anderen Geweben (z.B. Lunge, Nieren, Gonaden). Die Abbauprodukte werden als Konjugate (Sulfate oder Glukonate) über die Nieren und über den Kot ausgeschieden (BAMBERG, 1987; TYRELL ET AL., 1994; PETRIDES, 1998; MÖSTL, 2000; PALME ET AL., 2005). Aufgrund dieser Tatsache beeinflussen auch vom Stressgeschehen unabhängige Veränderungen der genannten Organe (Tumoren etc.) die Kortikosteronkonzentration im Organismus, wenn durch diese Veränderungen der Abbau oder die Ausscheidung der Glukokortikoide gestört ist.

5.5.3 Zyklusstand und Geschlecht

Die Faktoren Zyklusstand und Geschlecht haben ebenfalls Einflüsse auf die Kortikosteronkonzentration.

Untersuchungen an weiblichen und männlichen Wistar-Ratten ergaben bei ATKINSON UND WADDELL (1997), dass bei den weiblichen Tieren der niedrigste Kortikosteronspiegel im Östrus und der höchste im Proöstrus auftritt. Der Spiegel im Proöstrus war annähernd doppelt so hoch wie im Östrus. Bei den untersuchten männlichen Tieren entsprach der Wert in etwa dem der weiblichen Tiere im Östrus.

PANAGIOTAROPOULOS ET AL. (2004) kamen durch ihre Experimente zu dem Ergebnis, dass die Basalkonzentration des Kortikosterons bei weiblichen Ratten generell höher liegt als bei männlichen Tieren.

KANT ET AL. (1983) fanden heraus, dass bei männlichen Ratten infolge von Stress der Kortikosteron-Spiegel langsamer ansteigt als bei weiblichen Tieren. Der Einfluss des Stresses und des Geschlechtes war signifikant.

5.5.4 Spezies

Auch die Ratten-Spezies kann einen Einfluss auf den Kortikosteronspiegel haben. WINDLE ET AL. (1988) führten Kortikosteronmessungen bei gestressten und ungestressten weibliche Lewis- und Fischer 344-Ratten durch und stellten dabei fest, dass Fischer-Ratten einen höheren durchschnittlichen Kortikosteronspiegel aufwiesen als Lewis-Ratten.

5.6 Exogene Einflüsse auf die Kortikosteronkonzentration und weitere biologische Parameter

5.6.1 Zirkadiane, ultradiane und jahreszeitabhängige Rhythmik der Kortikosteronsekretion

Der bedeutendste exogene Einfluss auf die Kortikosteronkonzentration im Blut ist die zirkadiane Rhythmik. Die Kortikosteronkonzentration im Blut der nachtaktiven Ratten weist eine zirkadiane Rhythmik auf, wobei die höchsten Werte in der nächtlichen Dunkelphase auftreten (GALLANT, 1979; NICHOLSON ET AL., 1985; ISHIKAWA ET AL., 1995; ATKINSON UND WADDELL, 1997; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003; CAVIGELLI ET AL., 2005). Die zirkadiane Rhythmik spielt auch bei der Beurteilung eines Stressgeschehens eine Rolle, da als Reaktion auf einen Stressor ein höherer Kortikosteronanstieg zu erwarten ist, wenn der Stressor zum Zeitpunkt des niedrigen zirkadianen Kortikosteronspiegel einwirkt. Zum Zeitpunkt des zirkadianen Maximums fällt der Kortikosteronanstieg geringer aus (ISHIKAWA ET AL. 1992; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003).

AMIRAT ET AL.(1980) ermittelten bei Sandratten einen Einfluss der Jahreszeit auf die Plasma-Kortikosteronkonzentration. Die geringste Kortikosteronkonzentration wurde im Juli festgestellt, der höchste Wert wurde im Dezember erreicht und hielt bis März an.

Die Kortikosteronkonzentration weist zusätzlich zur zirkadianen Rhythmik noch eine ultradiane Rhythmik auf. Dies bedeutet, dass eine pulsatile Ausschüttung des Kortikosterons stattfindet mit Minima und Maxima, die ungefähr stündlich auftreten (WINDLE ET AL., 1988; LIGHTMAN, 2008).

5.6.2 Haltung und Fütterung

HEIDERSTADT ET AL. (2000) führten Untersuchungen an männlichen Ratten durch. Diese mussten entweder zunächst durch Futterreduktion innerhalb von 7 Tagen auf 80 % ihres ursprünglichen Körpergewichtes abnehmen und dieses Gewicht dann halten oder hatten nur sehr beschränkten Zugang zu Wasser (15 Minuten/Tag). Die Kontrollgruppe hatte uneingeschränkten Zugang zu Wasser und erhielt ad libitum Fütterung. Die Versuchsgruppe mit eingeschränktem Wasserzugang wies nach 32 Tagen eine deutlich geringere Gewichtszunahme auf als die Tiere der Kontrollgruppe. Der Kortikosteronspiegel der Tiere mit reduzierter Fütterung war an Tag 8 und Tag 37 des Experimentes signifikant höher als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Die Tiere mit beschränktem Wasserzugang wiesen keinen signifikant höheren Kortikosteronspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Insgesamt lässt die Studie den Schluss zu, dass der eingeschränkte Zugang zu Wasser keinen Stressor darstellt im Gegensatz zum chronisch reduzierten Körpergewicht und zur Futterreduktion.

5.6.3 Handling und Routinemaßnahmen

Die Haltung von Versuchstieren ist immer – auch wenn die Tiere zur Versuchsdurchführung möglichst ungestört bleiben sollen - mit einem gewissen Maß an notwendigem Handling und mit Routinemaßnahmen verbunden. Dazu gehören u.a. das Herausnehmen aus den gewohnten Käfigen zu Säuberungszwecken und das Verbringen in neue, gereinigte Käfige.

1974 zeigten BROWN UND MARTIN, dass das Setzen der Versuchstiere in eine neue Umgebung einen stärkeren Kortikosteronanstieg bewirkt als ein Handling über 5 Sekunden. TULI ET AL. (1995) führten Untersuchungen an männlichen Mäusen durch. Dabei wurden die Tiere vom ursprünglichen Unterbringungsort in einen Untersuchungsraum transportiert und im Anschluss daran getötet. Der Transport (10 Minuten Fußweg, 2 Minuten Liftaufenthalt) erfolgte in den den Tieren bekannten

Käfigen. Die Auswertung der Kortikosteronkonzentrationen der Tiere, die unmittelbar nach dem Transport getötet wurden, ergab einen signifikant höheren Kortikosteronwert als bei den Tieren, die ohne Transport unmittelbar nach Herausnehmen aus dem Käfig getötet worden waren. DUKE ET AL. (2001) machten ausfindig, dass das Verbringen von männlichen Sprague-Dawley Ratten in eine neue Umgebung mit neuer Einstreu einen vorübergehenden, aber signifikanten Anstieg der Herzfrequenz und des Erkundungs- und Pflegeverhaltens zur Folge hat.

5.6.4 Stress

CAROBREZ ET AL. (2002) zeigten in ihrem Versuch, bei dem Ratten über zwei Stunden einer deutlich überlegenen Ratte ausgesetzt waren (vor körperlichen Angriffen durch einen Drahtkäfig geschützt), dass der Kortikosteronspiegel unter dauerhaftem sozialen Stress ansteigt und erhöht bleibt, solange der exogene Stressor einwirkt. Ähnliche Untersuchungen von KEENEY ET AL. (2006) kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass bei Mäusen unter chronischem sozialen Stress durch Rangordnungskämpfe der Kortikosteronspiegel erhöht war im Vergleich zu ungestressten Kontroll-Tieren. Der Kortikosteronspiegel war noch 24 Stunden nach Versuchsende erhöht.

RETANA-MÁRQUEZ ET AL. (2003) stellten bei ihren Untersuchungen zu akuter und chronischer Stressbelastung bei Ratten fest, dass die gestressten Tiere eine geringere Gewichtszunahme aufwiesen als die ungestressten Kontroll-Tiere, eine Gewichtsabnahme konnte hingegen nicht festgestellt werden. STEFANSKI (2000) hingegen konnte bei Ratten unter chronischem sozialem Stress einen Gewichtsverlust nachweisen.

5.6.5 Anästhesie

Die Blutentnahme bei Labortieren gestaltet sich durch den damit verbundenen Stress für die Tiere, die Wehrhaftigkeit und Größe der Tiere als schwieriger als bei anderen Tierarten und sollte aus diesen Gründen unter Anästhesie durchgeführt werden. Da durch eine Inhalationsnarkose eine baldige Erholung der Tiere nach Narkosebeendigung gewährleistet wird und eine ausreichende Narkosetiefe schnell erreicht werden kann, wird die Inhalations- der Injektionsnarkose vorgezogen (DECKARDT ET AL., 2007).

Generell ist festzuhalten, dass kein Narkosemittel völlig nebenwirkungsfrei zu sein scheint. Äther z.B. ermöglicht eine schnelle Narkoseeinleitung, ist kostengünstig und verändert physiologische Parameter nur gering, aber kann zu Explosionen führen (HORN, 1977). Kohlendioxid ist kostengünstig, geruchlos und ermöglicht ebenfalls eine schnelle Narkoseeinleitung, verursacht aber bei alleiniger Anwendung Schmerzen und z.T. Todesfälle (FENWICK UND BLACKSHAW, 1989).

ALTHOLTZ ET AL. (2006) verglichen den Einfluss der Narkosegase CO₂ und Isofluran auf die Kortikosteronkonzentration im Blut von Ratten, denen mehrmals Blut entnommen wurde. Sie stellten fest, dass der Basis-Kortikosteronwert bei den Isofluran-exponierten Tieren höher war, aber auch, dass im weiteren Versuchsverlauf die Kortikosteronkonzentrationen bei den CO₂-exponierten Tieren höher waren als bei den Isofluran-exponierten Tieren. Sie folgerten daraus, dass bei mehreren aufeinander folgenden Blutentnahmen am gleichen Tier eine Isofluran-Narkose die bessere Wahl ist. GONZÁLEZ-GIL ET AL. (2006) verglichen den Effekt von Halothan und Isofluran auf die Serum-Kortikosteronkonzentration. Bei ihren Untersuchungen stieg der Kortikosteronwert während der Isofluran- und der Halothan-Narkose an und blieb über den gesamten Narkoseverlauf im Vergleich zum Basalwert erhöht. Aber der Kortikosteronwert unter Isofluran-Narkose war niedriger als unter Halothan-Narkose. In den Untersuchungen von FITZNER ET AL. (2006) wurden sowohl unterschiedliche Blutentnahmetechniken als auch unterschiedliche Anästhesie-Methoden (CO₂, Isofluran, ohne Anästhesie) miteinander verglichen. Als Resultat der Untersuchungen konnte festgehalten werden, dass die Tiere unter Isofluran-Narkose einen geringeren Blutdruckanstieg aufwiesen und während der Blutentnahme eine geringere Schwankung der Körpertemperatur. Auch diese Autoren ziehen aus ihren Experimenten die Schlussfolgerung, dass Isofluran das Narkosegas der Wahl ist. DECKARDT ET AL. (2007) untersuchten ebenfalls verschiedene Anästhetika (Äther, Methoxyfluran, Isofluran, Kohlendioxid) und konnten bei der Isofluran-Narkose eine sehr gleichmäßige und fast stressfreie Narkoseeinleitung und Erholungsphase ermitteln. Ein Einfluss auf die Kortikosteronkonzentration konnte bei keinem der Anästhetika nachgewiesen werden.

5.6.6 Blutprobenentnahme und Blutentnahmevolumen

Das geringe Blutvolumen der Ratte (50 bis 70 ml/kg Körpergewicht) und das geringe Blutvolumen, dass maximal an einem Tag entnommen werden darf (1,8 ml Blut pro 300 g Körpermasse) (MORTON ET AL., 1993; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999), stellt einen limitierenden Faktor für Blutuntersuchungen bei der Ratte da. Zusätzlich ist zu berücksichtigen, dass alleine durch die zur Blutentnahme nötigen Manipulationen, ein Anstieg der Kortikosteronkonzentration bewirkt werden kann und die Blutentnahme in maximal drei Minuten (gemessen ab dem Zeitpunkt des Herausnehmens aus dem Käfig) abgeschlossen sein sollte (GÄRTNER ET AL., 1980; VAHL ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007), um eine Verfälschung der untersuchten Parameter zu verhindern.

5.7 Die Area under the curve

Die Größe der Area under the curve (AUC) ist eine in der Statistik verwendete Methode, um Verläufe von Konzentrationen über der Zeit zu vergleichen (DE BOER ET AL., 1990; GHIZZONI ET AL., 1994; PRUESSNER ET AL., 2003; BHAGWAGAR ET AL., 2005; FEKEDULEGN ET AL., 2007; TESHIMA ET AL., 2008).

Ein Problem, das sich bei der Verwendung der AUC ergibt, ist die Tatsache, dass in unterschiedlichen Laboratorien unterschiedliche Berechnungsformeln zur Berechnung der AUC herangezogen werden. Die verwendeten Berechnungsformeln werden aber selten in den jeweiligen wissenschaftlichen Veröffentlichungen angegeben. Die Konsequenz hieraus sind kaum vergleichbare Ergebnisse. Grundsätzlich finden zwei unterschiedliche Berechnungsformeln Anwendung: erstens die AUC als Fläche zwischen gemessener Konzentration und x-Achse (AUC_G : Area under the curve with respect to the ground) und zweitens die AUC als Fläche zwischen gemessener Konzentration und Parallele zur x-Achse durch den y-Abschnitt der Ausgangskonzentration (AUC_I : Area under the curve with respect to increase). Die AUC_G beachtet sowohl die Sensitivität (den Unterschied zwischen den einzelnen Messwerte zueinander) als auch die Intensität (den Abstand der Meßwerte zur Grundlinie) und spiegelt die absolute Größe der Hormonausschüttung besser wider. Die AUC_I gibt den Verlauf über der Zeit besser wieder (PRUESSNER ET AL., 2003; FEKEDULEGN ET AL., 2007). Die Interpretation der AUC_I wirft durch die geringe Menge an Referenzliteratur und durch die Tatsache, dass sich die Interpretation von

Meßreihen, bei denen mehr als zwei Werte unter dem Ausgangsniveau liegen, als schwierig erweist, Probleme auf. Die AUC_i nimmt negative Werte an, wenn der Abfall den Anstieg übersteigt (FEKEDULEGN ET AL., 2007). PRUESSNER ET AL. (2003) empfehlen, bei der Analyse von Daten beide Berechnungsformeln zur Anwendung zu bringen.

Bei Wiederholungsmessungen über einen bestimmten Zeitraum liefert jeder Meßwert zwei Informationen: auf der einen Seite den Abstand des Wertes von der Grundlinie und auf der anderen Seite seinen Abstand vom voraus- und nachfolgenden Meßwert. Anders als bei anderen zusammenfassenden Maßeinheiten (z.B. Durchschnitts- oder Maximalwert) werden mit der AUC beide Informationen erfaßt. Die AUC ermöglicht generell einen Vergleich einer großen Datenmenge bei wiederholten Probennahmen ohne auf die hohe Anzahl der Ausgangsdaten zurückgreifen zu müssen, indem sie den Verlauf über der Zeit - bestehend aus mehreren Werten - zu einem Wert zusammenfaßt und damit die Auswertung vereinfacht (PRUESSNER ET AL., 2003; FEKEDULEGN ET AL., 2007). Durch die Verwendung der AUC reduziert sich die Anzahl der zu vergleichenden Werte auf die Anzahl der untersuchten Gruppen, die verglichen werden sollen. Zusätzlich bietet die AUC einen Vorteil bei Messungen, bei denen die Zeitabstände zwischen den Messungen nicht identisch sind, da die statistische Auswertung durch einen „repeated measures analysis of variance“ keine erprobte Methode aufweist, die beiden unterschiedlichen Informationen, die die AUC bietet, zu adjustieren.

III. Tiere, Material und Methoden

1. Allgemeines

Die Durchführung des Versuches erfolgte im Auftrag des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit und des Bundesamtes für Strahlenschutz im Rahmen des Projektes „In vivo-Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation – Langzeituntersuchung“ im Zeitraum Februar 2005 bis Januar 2007. Die hier untersuchten Hochfrequenzbereiche waren das GSM-Netz (Global System for Mobile Communications, 900 MHz), das UMTS-Netz (Universal Mobile Telecommunications System, 1966 MHz) sowie eine Scheinexposition (SHAM).

Die Forschungsnehmer waren der Forschungsverbund Elektromagnetische Verträglichkeit, Mensch und Umwelt (EMVU) der Technischen Universität München und die Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU). Die Räumlichkeiten für die Versuchsdurchführung befanden sich auf dem Gelände der Tierärztliche Fakultät (LMU, München). Die Projektpartner für die Umsetzung des Projektes waren der Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene (Untersuchungen zur Funktion des Immunsystems, Untersuchungen zur Stressbelastung) und der Lehrstuhl für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung (Untersuchungen zur kognitiven Leistung, Untersuchungen zur Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke) der Tierärztlichen Fakultät der LMU in Kooperation mit dem Lehrstuhl für Hochfrequenztechnik und dem Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München (Planung und Errichtung der Expositionseinrichtungen, Dosimetrie, technisches Monitoring).

Die Regierung von Oberbayern hat das Tierversuchsvorhaben „In vivo-Langzeituntersuchungen des Einflusses elektromagnetischer Felder der Mobilfunkkommunikation im Rattenmodell“ (Vor- und Hauptversuch) unter dem Aktenzeichen Az: 55.2-1-54-2531-91-04 genehmigt.

Der Versuch wurde als Doppelblindstudie durchgeführt. Den durchführenden Personen war während des gesamten Versuchszeitraumes nicht bekannt, welcher Strahlungsart (GSM, UMTS, Scheinexposition) die jeweiligen Tiere ausgesetzt waren. Auf diese Weise konnte eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die persönliche Erwartungshaltung der versuchsdurchführenden Personen ausgeschlossen werden.

2. Vorversuch

2.1 Zielsetzung

Ziel der Vorversuche war es, den Einfluss einer Inhalationsnarkose und des routinemäßigen Handlings auf das Stressgeschehen der Ratte zu bestimmen. Da die Blutentnahmen im Hauptversuch aus Gründen der einfacheren und für die Tiere weniger belastenden Methode in Narkose durchgeführt werden sollten, wurde im Vorversuch der potentielle Stressor „Narkose“ untersucht.

Zusätzlich wurde der Einfluss zweier Inhalationsnarkotika (Isofluran versus Halothan) anhand der im Blut bestimmten Kortikosteronwerte gegenübergestellt. Dazu wurden für die Versuchsdurchführung drei Versuchsgruppen festgelegt.

In Versuchsgruppe 1 erfolgte die Blutentnahme unter Isofluran- und in Versuchsgruppe 2 unter Halothan-Narkose. In Versuchsgruppe 3, die zur Festlegung der Referenzwerte als Kontrollgruppe diente, erfolgte die Blutprobenentnahme am wachen Tier. Alle Tiere erfuhren in der Versuchsvorbereitungsphase über 15 Wochen ein identisches Handling und wurden an die Versuchsumgebung und –bedingungen (Untersuchungsraum, Narkoseröhre, Verbringung in die Narkoseröhre, Restrainter, zur Blutentnahme notwendige Manipulationen) gewöhnt, um eine Beeinflussung des Stressgeschehens durch das Handling auf ein Minimum zu reduzieren.

2.2 Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 57 weibliche Albino-Ratten vom Stamm WISTAR, RjHAN, die im Alter von drei Wochen aus Frankreich (Janvier, Le Genest-St-Isle, Frankreich) geliefert wurden.

Die blutsverwandten Tiere einer Transportbox wurden auf drei Versuchstierkäfige verteilt. Die Tiere verschiedener Transportboxen waren nicht verwandt. Die Tiere eines Versuchstierkäfigs waren demnach nicht verwandt.

Um eine eindeutige Identifizierung des Einzeltieres innerhalb eines Käfigs zu gewährleisten, erfolgte die Kennzeichnung der Tiere mittels Ohrlochung (Tier A: Lochung im rechten Ohr, Tier B: Lochung im linken Ohr, Tier C: keine Lochung).

Das Körpergewicht (angegeben als MW \pm SD) in g betrug zu Versuchsbeginn im Alter von 20 Wochen $272,4 \pm 21,4$ g.

Insgesamt wurden 50 Tiere untersucht. Sieben der insgesamt 57 Versuchstiere dienten als Reservetiere. Die Verteilung der Tiere auf die einzelnen Versuchsgruppen ist Tab. 3 zu entnehmen.

Tab. 3: Anzahl der Versuchstiere je Versuchsgruppe

	Anzahl der Versuchstiere
Versuchsgruppe 1 (Isofluran)	10
Versuchsgruppe 2 (Halothan)	10
Versuchsgruppe 3 (wache Tiere)	30
Reservetiere	7
Gesamt tierzahl	57

2.3 Haltungsbedingungen

2.3.1 Käfige und Belegungsdichte

Die Haltung der Tiere erfolgte in Makrolon®-Typ IV-Käfigen mit erhöhtem Deckel (54 x 32 x 24,5 cm). Die Käfige befanden sich in drei übereinander liegenden Etagen eines Cage Racks (Käfiggestell) aus Metall. Es wurden jeweils drei weibliche Tiere in einem Käfig gehalten. Daraus ergaben sich insgesamt 19 Käfige zu je drei Tieren.

2.3.2 Futter und Einstreu

Als Futter diente Haltungsfutter für Ratten und Mäuse (ssniff R/M-Haltung, 10 mm, ssniff Spezialitäten GmbH, Soest, Deutschland). Die Fütterung erfolgte ad libitum. Die Wasserversorgung erfolgte ad libitum über Nippeltränken (Fassungsvermögen 700 ml) mit kommunalem Leitungswasser.

Als Einstreu wurde Weichholzgranulat (altromin Animal Bedding Granulat, Altromin GmbH, Lage-Lippe, Deutschland) verwendet. Zur Beschäftigung erhielten die Tiere einige Streifen Zellstoff (Zellstoff in Ballen, ungebleichte Qualität, 40 x 60 cm, Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Deutschland).

2.3.3 Klima

Die Versuchstiere wurden unter Standardbedingungen bei einer Raumtemperatur von 21°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) und einer Luftfeuchte von 55 % ($\pm 10\%$) gehalten.

2.3.4 Lichtprogramm

Die Lichtintensität betrug während der zwölfstündigen Tagphase (7.00 bis 19.00 Uhr MEZ) 55 ± 5 Lux, während der Nachtphase (19.00 bis 7.00 Uhr MEZ) Null Lux. Das Lichtprogramm wurde automatisch zeitgesteuert. Um eine gleichmäßige Beleuchtung der Käfige zu erreichen, wurden die Käfige einmal wöchentlich rotiert, indem die Käfige eine Etage höher gestellt wurden.

2.3.5 Pflege und Gesundheit

Es erfolgte eine tägliche, adspektorische Kontrolle der Versuchstiere, des zur Verfügung stehenden Futters und des Trinkwasservorrates. Zur Überprüfung und Dokumentation des Gesundheitszustandes wurden die Tiere einmal pro Woche gewogen und dabei auf klinisch sichtbare Krankheitszeichen überprüft.

Die Tierpflege wurde einmal pro Woche durchgeführt. Dabei wurden die Käfige entleert und nach Reinigung mit neuer Einstreu befüllt. Ein Wasserwechsel fand zweimal pro Woche statt.

Der Umgang mit den Versuchstieren erfolgte unter standardisierten Hygienemaßnahmen (Schuhwechsel, Händereinigung und -desinfektion, Schutzkleidung, Mundschutz, OP-Haube).

2.4 Versuchsdurchführung

2.4.1 Versuchsvorbereitung und Handling

Um einen Einfluss des Handlings auf das Stressgeschehen auszuschließen, wurden alle Tiere in der Versuchsvorbereitungsphase zweimal wöchentlich jeweils zehn Minuten „gehandelt“.

Das Handlingprogramm umfasste das Aufnehmen der Tiere in die Hand, das Betasten des Bauches und durch Hochheben einer Hautfalte die Simulation einer intraperitonealen (i.p.) Injektion, die sanfte Fixierung der Gliedmaßen und des Schwanzes, die manuelle Fixierung der Tiere zur Injektion sowie das Verbringen der Tiere in die Narkoseröhre und den Restrainer zur Blutentnahme. Die Tiere hatten während des Vorganges die Möglichkeit, mit Händen und Armen des Untersuchers Kontakt aufzunehmen. Während des Handlings wurde zusätzlich das Verhalten der Tiere hinsichtlich Allgemeinbefinden und genereller Aktivität (aktive/passive

Kontaktaufnahme gegenüber Gegenständen/Personen, Neugier-/Meideverhalten, Klettern, Balancieren) beurteilt.

2.4.2 Versuchszeitplan

Das Handlingprogramm erfolgte über einen Zeitraum von 15 Wochen. Die chronologische Abfolge der durchgeführten ACTH-Tests ist Tab. 4 zu entnehmen.

Tab. 4: Zeiträume der durchgeführten ACTH-Tests

	Zeiträume der ACTH-Tests
Versuchsgruppe 1 (Isofluran)	13.06.2005 - 16.06.2005
Versuchsgruppe 2 (Halothan)	21.06.2005 - 24.06.2005
Versuchsgruppe 3 (wache Tiere)	28.06.2005 - 05.07.2005

2.4.3 Gewinnung der Blutproben und ACTH-Applikation

Die intraperitoneale ACTH-Applikation sowie die Gewinnung der Blutproben der narkotisierten Tiere wurden analog zum Hauptversuch durchgeführt (siehe 3.3.5).

Zur Gewinnung der Blutproben am wachen Tier wurden die Tiere in Zwangsröhren (Restrainer) aus Plexiglas verbracht. Eine Hilfsperson fixierte die Tiere im Restrainer, während eine zweite Person aus einer der Schwanzvenen (Vv. coccygeae) die Blutprobenentnahme durchführte.

2.4.4 Entnahmezeitpunkte der Blutproben

Die Entnahmezeitpunkte der narkotisierten Tiere (t0, t15, t30, t45, t60, t90, t120) entsprachen denen des Hauptversuchs (siehe 3.3.7). Bei den wachen Tieren erfolgte jeweils eine Entnahme vor ACTH-Applikation (t0) sowie zu einem einzigen weiteren Zeitpunkt (t15, t30, t60 oder t120).

2.4.5 Blutprobenverarbeitung und Lagerung der Blutproben

Verarbeitung und Lagerung der Blutproben erfolgten analog zum Hauptversuch (siehe 3.3.7).

2.5 Probenmessung des Kortikosterons

2.5.1 Fremdanalyse

Die Fremdanalyse wurde durch das Institut für Biochemie der Veterinärmedizinischen Universität Wien (Veterinärplatz 1, 1210 Wien, Österreich) durchgeführt. Die Analyse erfolgte mittels eines kompetitiven ELISAs,

Die ELISA-Platte war mit einer definierten Menge Antikörper (Schaf-Anti-Kaninchen-IgG) beschichtet. Das Antiserum mit spezifischem Antikörper, das hinzu gegeben wird, bindet an den Beschichtungsantikörper. Das Probenkortikosteron im Rattenserum und ein Biotin-markiertes Antigen konkurrieren um die Bindungsstellen dieses spezifischen Antikörpers. Bei einer niedrigen Konzentration an nativem Kortikosteron in der Ratten-Serumprobe kann folglich eine größere Menge des Biotin-markierten Antigens binden. Durch einen Waschvorgang werden nach einer Inkubationszeit ungebundene Antigene entfernt. Danach erfolgt eine Inkubation mit Streptavidin-Peroxidase. Im Anschluss entsteht durch Zugabe von Tetramethylbenzin (TMB) eine blaue Färbung. Diese Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt und es resultiert ein Farbumschlag nach gelb.

Zur Bestimmung der nativen Kortikosteronkonzentration in den Serumproben der Versuchstiere wird durch ein Plattenphotometer die optische Dichte bei 450 nm gemessen, die indirekt proportional zur Kortikosteronkonzentration der untersuchten Proben ist.

2.5.2 Eigene Analyse

Die eigene Analyse wurde mittels eines kommerziellen ELISAs analog zum Hauptversuch durchgeführt.

2.6 Statistische Auswertung

Die biometrische Planung des Vorversuches und die Auswahl der statistischen Testverfahren erfolgte anhand eines biometrischen Gutachtens des Instituts für Statistik (StaBLab) der LMU. Die statistischen Tests wurden mittels SPSS 14 durchgeführt, die Berechnung der Area Under Curve (AUC) unterhalb des Kortikosteronverlaufes über der Zeit erfolgte mittels SigmaStat 3.0 und die Erstellung der Grafiken mittels SigmaPlot 9.01.

Zur statistischen Auswertung wurde eine ANOVA (Analysis of variance) herangezogen. Ergab die Erstellung der ANOVA einen signifikanten Unterschied, wurde mittels post hoc Tukey-Test festgestellt, zwischen welchen Versuchsgruppen sich der Unterschied befindet. Ein Effekt wurde als signifikant beurteilt, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ war, und als hochsignifikant, wenn $p < 0,01$ war. Als AUC (Area under Curve) wird die Fläche definiert, die durch den Kurvenverlauf der Kortikosteronkonzentration über der Zeit, durch die x-Achse (Zeit) und durch eine Parallele zur y-Achse zum Zeitpunkt t60 festgelegt ist (Abb. 2).

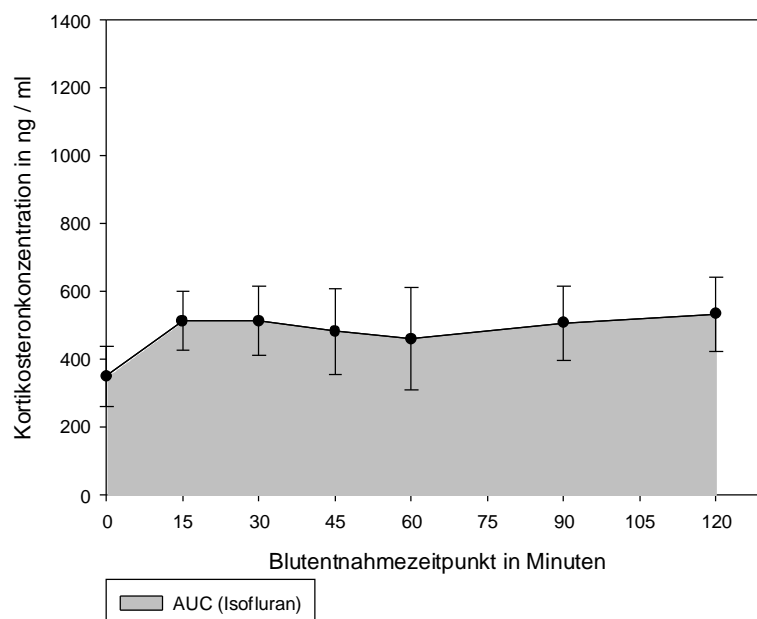


Abb. 2: Darstellung der AUC am Beispiel des Verlaufes der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration in ng/ml unter ISOFLURAN-Narkose (n = 10) im Vorversuch

3. Hauptversuch

3.1 Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um weibliche Albino-Ratten vom Stamm WISTAR, RjHAN. Die für den Hauptversuch relevanten Tiere wurden als institutseigene Nachzucht in den Expositions-kammern geboren. Die Untersuchungen zur chronischen Stressbelastung wurden an zwei Generationen (F0, F2) nach unterschiedlicher Expositions-dauer, und an unterschiedlichen Altersgruppen durchgeführt (F0b und F2 im Alter von 19 und 20 Wochen, F0a im Alter von 52 Wochen).

Die Ausgangstiere des Versuches wurden im Alter von neun Wochen vom Züchter (Janvier, Le Genest-St-Isle, Frankreich) geliefert.

Aus den ursprünglich gelieferten Tieren wurden im Zeitraum vom 11.07.2005 bis 04.08.2005 über Selektionsverfahren (Konditionierungstests in Skinnerboxen) die Tiere der Parentalgeneration (F₋₁) ausgewählt. Für den Versuch wurden die Tiere mit mittlerer Lernleistung ausgewählt. Nach Auswahl der F₋₁-Generation erfolgte eine randomisierte Zuteilung zu den Expositionskammern (UMTS, GSM, SHAM). Aus diesen Tieren wurden in der jeweiligen Expositionskammer nach dem Zufallsprinzip Reproduktionspaare festgelegt.

Aus arbeitstechnischen Gründen waren alle Generationen in je 2 Gruppen unterteilt, die im Abstand von 4 Wochen gezeugt, geboren, sowie untersucht wurden. Somit waren die Tiere beider Gruppen zu Versuchsbeginn sowohl gleich alt, als auch gleich lang exponiert.

Zur Verpaarung wurde jeweils eine männliche und eine weibliche Ratte in einem Käfig mit Gittereinsatz für sieben Tage zusammengesetzt. Der Paarungserfolg wurde durch die tägliche Kontrolle des Auftretens postkoitaler Plaques (eingetrockneter Vaginalpfropfs) dokumentiert. Nach Ablauf der sieben Tagen wurden die Reproduktionspaare separiert. Die Gewichtskontrolle wurde zur weiteren Trächtigkeitskontrolle herangezogen. Die Trächtigkeitsdauer betrug durchschnittlich 21 Tage.

Das Resultat der Verpaarung der Tiere der F₋₁-Generation war die Generation F₀. Aus versuchstechnischen Gründen erfolgte eine zusätzliche Aufteilung der Generation F₀ in die Untergruppen F_{0a} und F_{0b}. Es ergaben sich hieraus vier Versuchsgruppen: F_{0a} Gruppe 1, F_{0b} Gruppe 1, F_{0a} Gruppe 2 und F_{0b} Gruppe 2. Die Tiere der Versuchsgruppen F_{0a} Gruppe 1 und 2 waren der Exposition im Schnitt ein Jahr, die Tiere der Versuchsgruppen F_{0b} Gruppe 1 und 2 im Schnitt fünf Monate ausgesetzt. Die weiteren Verpaarungen waren im Ablauf identisch. Die Verpaarungen der Generation F₀ führten zur Generation F₁. Für die Nachzucht der Generation F₀ wurden ausschließlich Tiere der Versuchsgruppe F_{0a} verwendet, die Versuchsgruppe F_{0b} wurde nicht reproduziert. Aus der Verpaarung von F₁ ging die Generation F₂ hervor.

Um eine eindeutige Identifizierung des Einzeltieres zu gewährleisten, erfolgte die Kennzeichnung der Tiere mittels eines Mikrochip-Transponder-Systems (Alvic-Transponder, ALVETRA GmbH, Neumünster, Deutschland). Die Transponder

wurden am 21. Lebenstag subcutan (s.c.) appliziert. Jeder Transpondernummer wurde eine laufende Versuchstiernummer zugeteilt. Zusätzlich erhielt jedes Versuchstier bei Eintritt in den Versuch eine laufende Labornummer (Nr. 1 bis Nr. 294).

In die Untersuchungen zum potentiellen Einfluss des chronischen Stressgeschehens wurden ausschließlich weibliche Tiere einbezogen, um Geschlechtseinflüsse auf die Kortikosteronkonzentration auszuschließen.

Das Körpergewicht der Versuchstiere zum Versuchszeitpunkt ist Tab. 5 zu entnehmen.

Tab. 5: Körpergewicht in Gramm zum Versuchszeitpunkt angegeben als MW \pm SD

	<u>Gewicht</u>
F0a	336,6 \pm 32,3
F0b	280,4 \pm 20,0
F2	271,6 \pm 22,7

Insgesamt wurden 294 Tiere untersucht. Die Verteilung der Tiere auf die drei Expositionskammern und die unterschiedlichen Untersuchungsgruppen ist aus Tab. 6 ersichtlich.

Tab. 6: Anzahl der Versuchstiere je Gruppe und je Expositionskammer

	GSM	UMTS	SHAM	Gesamttierzahl
F0a/Gr. 1	14	14	18	46
F0a/Gr. 2	9	12	17	38
F0b/Gr. 1	15	13	15	43
F0b/Gr. 2	12	11	18	41
F2/Gr. 1	21	21	21	63
F2/Gr. 2	21	21	21	63
Gesamttierzahl	92	92	110	294

3.2 Haltungsbedingungen

3.2.1 Käfige und Belegungsdichte

Die Haltung der Tiere erfolgte entsprechend den versuchstechnischen Bedingungen in metallfreien Käfigen. Als Unterschalen wurden Makrolon-Typ III H-Unterschalen verwendet (425 x 266 x 185 cm; Bodennutzfläche: 800 cm²; Tecniplast Deutschland GmbH, Hohenpreißenberg, Deutschland). Die Abdeckung erfolgte durch perforierte Kunststoffdeckel aus Polycarbonat (Höhe: 5 cm, Durchmesser der Luftlöcher: 1 cm). Die Maße der Käfige betrugen damit insgesamt 425 x 266 x 190 cm. Um eine bessere Belüftung der Käfige zu erzielen, wurden die Schmalseiten der Unterschalen im Juli 2006 zusätzlich mit Perforationen (Durchmesser: 1cm) versehen. Es wurden jeweils drei weibliche Tiere in einem Käfig gehalten. Vom Zeitpunkt der Geburt bis zum Absatzalter der Jungtiere mit 21 Tagen befand sich jeweils ein Muttertier mit den Jungtieren in einem Käfig. Anschließend wurden jeweils drei nicht verwandte weibliche Tiere in einem Käfig untergebracht. Die Separierung der Muttertiere erfolgte einige Tage vor dem angenommenen Geburtstermin.

3.2.2 Futter und Einstreu

Als Futter wurde Haltungsfutter für Ratten und Mäuse verwendet (altromin 1324, Altromin GmbH, Lage, Deutschland). Die Fütterung erfolgte ad libitum. Aus versuchstechnischen Gründen wurde das Futter direkt in die Einstreu gegeben.

Die Muttertiere erhielten ab Paarungsbeginn und die Nachkommen bis zum Absatzalter Zuchtfutter für Ratten und Mäuse (altromin 1314, Altromin GmbH, Lage, Deutschland). Die Inhaltsstoffe der Futtermittel sind in Tab. 7 aufgelistet.

Tab. 7: Inhaltsstoffe altromin 1324 und altromin 1314

altromin 1324	Anteil (%)	Inhalt je kg	altromin 1314	Anteil (%)	Inhalt je kg
Rohprotein	19		Rohprotein	22,3	
Rohfett	4		Rohfett	5	
Rohfaser	6		Rohfaser	4,5	
Rohasche	7		Rohasche	6,5	
Ca	0,9		Ca	0,9	
P	0,7		P	0,7	
Vitamin A		15000 I.E.	Vitamin A		15000 I.E.

altromin 1324	Anteil (%)	Inhalt je kg	altromin 1314	Anteil (%)	Inhalt je kg
Vitamin D3		600 I.E.	Vitamin D3		600 I.E.
Vitamin D		75 mg	Vitamin D		75 mg
Cu		5 mg	Cu		5 mg

Aufgrund eines positiven Ergebnisses der regelmäßig durchgeführten Kotuntersuchungen (Nachweis von *Syphacia* spp.-Befall) erhielten die Tiere in den Zeiträumen vom 05.05. bis 29.05.2006, vom 29.09. bis 09.10.2006 und vom 24.1. bis 01.12.2006 Haltungsfutter für Ratten und Mäuse mit Flubenolzusatz (altromin 1324, Flubenol 5%ig, Altromin GmbH, Lage, Deutschland).

Die Wasserversorgung erfolgte ad libitum über metallfreie Nippeltränken (Fassungsvermögen 500 ml) mit kommunalem Leitungswasser. Die Flaschen wurden durch Gummistopfen mit Glasnippel (Länge: 70 mm, Durchmesser der Glasnippel: 7 mm, Nippelöffnung: 2,5 mm) verschlossen.

Als Einstreu wurde Weichholzgranulat verwendet (altromin Animal Bedding Granulat, Altromin GmbH, Lage-Lippe, Deutschland). Als Beschäftigungsmaterial befanden sich in jedem Käfig pro Tier ein Nageholz (Material: Espenholz, Größe S 4 x 1,6 x 1 cm, Fa. Abedd Lab und Vet Service GmbH, Wien, Österreich), pro Käfig eine autoklavierte Pappröhre und pro Käfig einige Streifen Zellstoff (Zellstoff in Ballen, ungebleichte Qualität, 40 x 60 cm, Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG, Garbsen, Deutschland).

3.2.3 Klima

Die Versuchstiere wurden in den Expositionsammern unter Standardbedingungen bei einer Raumtemperatur von 20° C ($\pm 3^\circ$ C) und einer Luftfeuchte von 60 % (± 15 %) gehalten.

3.2.4 Lichtprogramm

Die Lichtintensität betrug während der zwölfstündigen Tagphase (7.00 bis 19.00 Uhr MEZ) 65 ± 5 Lux, während der Nachtphase (19.00 bis 7.00 Uhr MEZ) null Lux und wurde automatisch zeitgesteuert.

3.2.5 Pflege und Gesundheit

Die Tierpflege wurde bis März 2006 dreimal, danach viermal wöchentlich durchgeführt. Davon wurden dreimal die Käfige entleert und sofort wieder mit neuer Einstreu befüllt. Beim vierten Mal erhielten die Tiere jeweils vollständig gereinigte, neue Käfige. Ein Wasserwechsel fand dreimal pro Woche statt.

Es erfolgte eine tägliche, adspektorische Kontrolle der Versuchstiere, des zur Verfügung stehenden Futters und des Trinkwasservorrates. Zur Überprüfung und Dokumentation des Gesundheitszustandes wurden die Tiere einmal pro Woche gewogen, auf klinisch sichtbare Krankheitszeichen überprüft und in ihrem allgemeinen Gesundheitszustand beurteilt (Ernährungs- und Pflegezustand, Verhalten, Atemfrequenz, Futter- und Wasserverbrauch). Es wurden monatliche Kotuntersuchungen durchgeführt. Bei positivem Ergebnis erfolgte eine Entwurmung mit Flubenol als Futtermittelzusatz.

Der Umgang mit den Versuchstieren erfolgte unter standardisierten Hygienemaßnahmen (Schuhwechsel, Händereinigung und -desinfektion, Tragen desinfizierter Latexhandschuhe, Schutzkleidung inklusive Mundschutz und OP-Haube).

3.3 Versuchsdurchführung

3.3.1 Daten und Belegung der Hochfrequenz-Expositionskammern

Die Exposition wurde in drei speziellen vollklimatisierten Hochfrequenz-Expositionskammern (Außenabmessung 3870 x 3870 x 3787 mm) für die GSM- (900 MHz), UMTS- (1966 MHz) und für die Scheinexposition (SHAM) durchgeführt. Eine schematische Seitenansicht der Expositionskammern ist in Abb. 3 dargestellt.

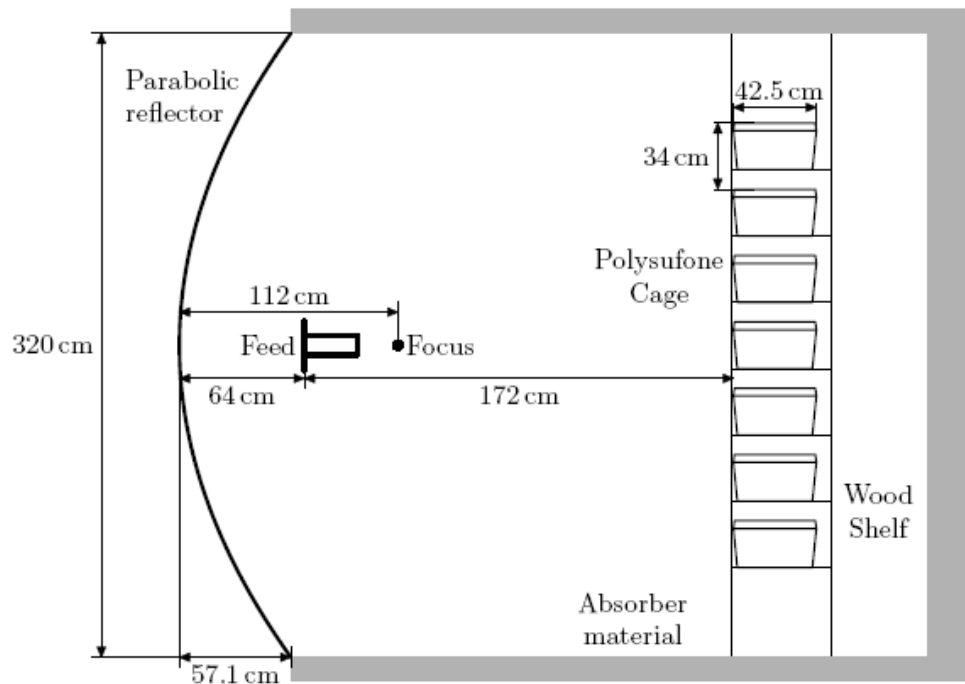


Abb. 3: Schematische Seitenansicht der Expositionskammern (nach ALFAGAME *ET AL.*, 2005)

Die Planung und Leitung des Kammernaufbaus wurde durch den Lehrstuhl für Hochfrequenztechnik der Technischen Universität München im Zeitraum vom 27.10.2004 bis 06.04.2005 durchgeführt. Die Bauteile der Kammern wurden von der Firma Emc-Technik & Consulting GmbH (Stuttgart, Deutschland) angeliefert (Herkunft der Kammertüren: BSS Braden Shielding Systems, OK, USA). Die Kammerwände waren nach einer Sandwichbauweise aufgebaut. Sie bestanden jeweils im Kern aus einer wasserfesten „V100-Spanplatte“. Die Spanplatte war beidseitig mit 0,56 mm dickem verzinktem Stahlblech verkleidet, woraus nach außen hin eine vollständige elektromagnetische Abschirmung resultierte.

Außerhalb der Expositionskammer 1 befand sich ein GSM-Generator (Rohde & Schwarz GmbH & Co. KG, München, Deutschland), außerhalb der Expositionskammer 2 ein generischer UMTS-Generator (GMT-Gesellschaft für Medizin und Technik, Wuppertal, Deutschland). Ebenfalls außerhalb der Expositionskammern befanden sich auf die jeweiligen Frequenzbereiche angepasste Leistungsverstärker (Expositionskammer 1: Leistungsverstärker BLWA 8996-175, Ausgangsleistung 175 W; Expositionskammer 2: BLMA 1921-200, Ausgangsleistung 200 W, BONN Elektronik, Ottobrunn, Deutschland). Die Expositionskammer 3 diente der Scheinexposition (SHAM) und war deshalb mit keinem Genarator versehen.



Abb. 4: Außenansicht der Expositions-kammern

Die Kammerwandinnenseiten waren mit formverschiedenen Hochfrequenzabsorbern aus Schaumstoff ausgekleidet: Pyramiden- (Rückwand hinter Käfigregalen, Boden), Flach- (Türinnenseite, Fläche unter Bodenplatte) und Keilhochfrequenzabsorbern (Innenseite der restlichen Wände), die den größten Teil der Strahlung absorbierten, ein geringer Teil der Strahlung wurde reflektiert. Jede Kammer war mit einer Parabolantenne mit einem Durchmesser von 3,2 m und einer Brennweite von 1,12 m Brennweite ausgestattet.

In den Kammern befanden sich jeweils an einer Längsseite sieben übereinander angeordnete Holzregale (Maße: 3700 x 450 x 19 mm) mit je acht Stellplätzen. Pro Kammer ergab sich daraus ein Maximum von 56 Stellplätzen.

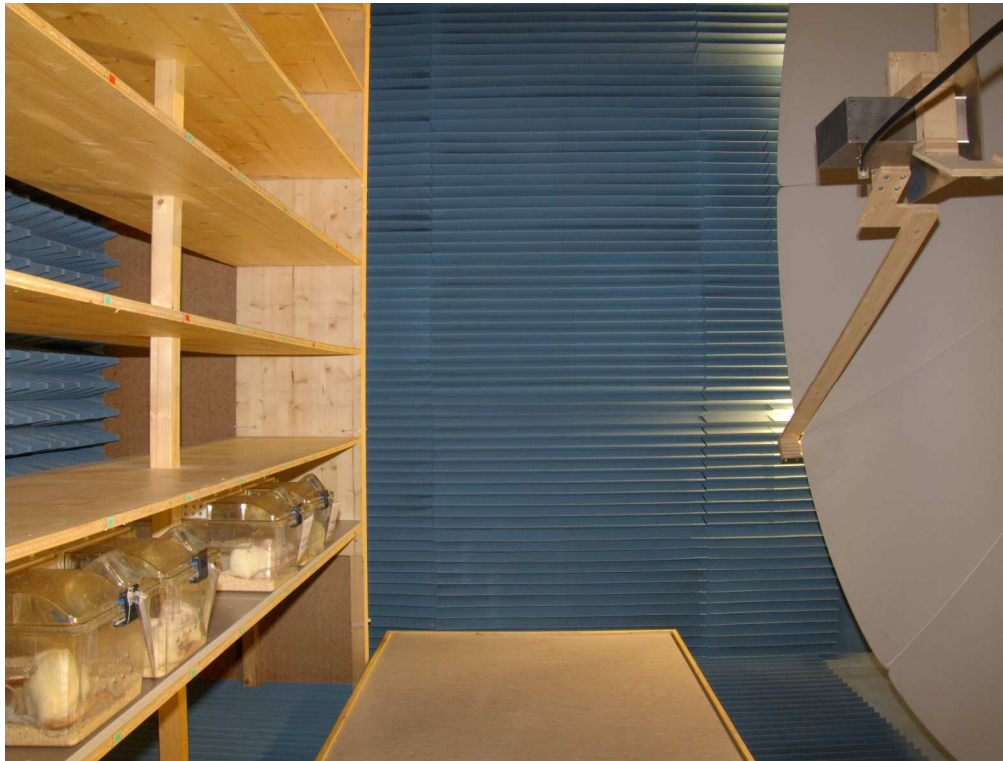


Abb. 5: Innenansicht der Expositions-kammern (in Ansicht spiegelverkehrt zu Abb. 3)

3.3.2 Expositionsdaten

Die Exposition umfasste die zwei unterschiedlichen Signalquellen GSM und UMTS. In Expositions-kammer 1 erfolgte eine Befeldung mit 900 MHz (GSM) und in Expositions-kammer 2 mit 1,966 GHz (UMTS). Die Expositions-kammer 3 diente als Kontrollkammer und war keiner Befeldung ausgesetzt. In den Expositions-kammern 1 und 2 wurde ein SAR-Wert (Specific Absorption Rate) von 0,4 W/kg angestrebt. Dieser Wert entspricht dem in den GUIDELINES FOR LIMITING EXPOSURE TO TIME-VARYING ELECTRIC, MAGNETIC AND ELECTROMAGNETIC FIELDS festgelegten und international anerkannten Empfehlungen für den Ganzkörper SAR-Wert bei beruflicher Exposition (INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION, 1998).

Die Befeldung nutzte einen parabolischen Reflektor, um eine sphärische Welle in eine ebene Welle umzuwandeln („compact range“). In den Kammern herrschten Fernfeldbedingungen.

Die durchschnittliche Tagesbefeldung betrug 95 %. Dieser Wert resultierte aus dem Abschalten der Befeldung bei Betreten und während des Aufenthaltes von Personen in den Expositions-kammern zur Durchführung von Routinemaßnahmen wie Tierpflege als auch zur Entnahme von Tieren für die Versuchsdurchführung

Zur Gewährleistung einer gleichmäßigen Befüllung und Beleuchtung aller Käfige, erfolgte einmal pro Woche eine Rotation der Käfige, wobei jeder Käfig einen Stellplatz nach rechts und der letzte Käfig eine Etage nach unten bewegt wurde. Der Käfig in der untersten Etage rechts außen wurde in die oberste Etage links außen gestellt.

Die einzelnen Expositionszeiträume sind Tab. 8 zu entnehmen.

Tab. 8: Expositionszeiträume

<u>Generation</u>	<u>Expositionsszeitraum</u>
F0b/Gr. 1	12.08.2005 - 18.01.2006
F0b/Gr. 2	13.09.2005 - 22.02.2006
F0a/Gr. 1	12.08.2005 - 28.08.2006
F0a/Gr. 2	13.09.2005 - 02.10.2006
F2/Gr. 1	18.06.2006 - 27.11.2006
F2/Gr. 2	23.07.2006 -02.01.2007

3.3.3 Vorangegangene Untersuchungen

Zum Zeitpunkt des ACTH-Tests waren alle Tiere bereits einem Immunisierungsversuch unterzogen worden, der Bestandteil des Versuchsteiles „Untersuchungen zum Einfluss einer chronischen Exposition in hochfrequenten elektromagnetischen Feldern von zwei Mobilfunkstandards (GSM und UMTS) auf die humoralen Immunantwort von Ratten (*Rattus norvegicus*)“ (KAHLFELD, 2009) war. Bei den Tieren der F0b Generation war dies die einzige vorangegangene Untersuchung. Bei einem Teil der F0a Generation hat sowohl ein Verhaltenstests als auch Verpaarung, Trächtigkeit und Jungtieraufzucht stattgefunden (Tab. 9 und Tab. 10). Bei sieben Tieren ging dem Einsatz als Zuchttier kein Verhaltenstest voran.

Tab. 9: Anzahl der Tiere der Generation F0a mit vorangegangenem Verhaltenstest

	GSM	UMTS	SHAM	Gesamttierzahl
F0a/Gr. 1	6	5	5	16
F0a/Gr. 2	5	5	4	14

Tab. 10: Anzahl der Tiere der Generation F0a, die als Zuchttiere eingesetzt wurden

	GSM	UMTS	SHAM	Gesamttierzahl
F0a/Gr. 1	6	7	7	20
F0a/Gr. 2	4	7	6	17

3.3.4 Versuchszeitplan

Die chronologische Abfolge der Versuche ist Tab. 11 zu entnehmen.

Tab. 11: Zeiträume der durchgeführten ACTH-Tests

	Zeiträume der ACTH-Tests
F0b/Gr. 1	18.01.2006 - 01.02.2006
F0b/Gr. 2	22.02.2006 - 09.03.2006
F0a/Gr. 1	28.08.2006 - 12.09.2006
F0a/Gr. 2	02.10.2006 - 17.10.2006
F2/Gr. 1	27.11.2006 - 17.12.2006
F2/Gr. 2	02.01.2007 – 22.01.2007

3.3.5 Gewinnung der Blutproben und ACTH-Applikation

Die Blutentnahmen wurden zwischen 9.00 und 11.00 Uhr MEZ jeweils an den Tieren eines Käfigs (zwei bis drei Tiere) durchgeführt.

Um die „Verblindung“ der an der Probenentnahme beteiligten Personen zu gewährleisten, brachte eine dritte, unabhängige Person die Tiere nach Bestimmung des jeweiligen aktuellen Körpergewichtes in den Untersuchungsraum.

Die Tiere wurden zur Blutentnahme mittels Inhalationsanästhesie narkotisiert (Narkosegerät: Völker GmbH, Kaltenkirchen, Deutschland). Bei dem verwendeten Narkosemittel handelte es sich um Isofluran (Isoba®, Essex Tierarznei, München, Deutschland), wobei Sauerstoff als Trägersubstanz verwendet wurde (Sauerstoff für medizinische Zwecke, Westfalen AG, Münster, Deutschland).

Zur Narkoseeinleitung wurden jeweils die Tiere eines Versuchskäfigs in eine Plexiglasröhre verbracht (Abb. 6). Diese wurde im Vorfeld, um eine schnelle Narkoseeinleitung zu gewährleisten, zehn Minuten mit Isofluran (5 %) vorgeflutet. Die

Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte individuell über Kopfkammern aus Plexiglas, in die die Tiere nach Erreichen einer ausreichenden Narkostiefe überführt wurden (Abb. 7).



Abb. 6: Narkoseeinleitung in vorgefluteter Plexiglasröhre



Abb. 7: Narkosefortführung an individuellen Kopfkammern

Vor der Blutentnahme wurde der Schwanz durch Eintauchen in warmes Wasser angewärmt (bei ca. 37°C für 60 Sekunden), um eine Gefäßdilatation zu erreichen. Die Venen wurden dann durch Anlegen eines Stauschlauches an der Schwanzbasis gestaut. Als Stauschlauch diente das Perfusionsbesteck Tro-Venaset® (Tro-Venaset®, Trodge Medical GmbH, Hamburg, Deutschland).

Die Entnahme der Blutproben erfolgte aus den Schwanzvenen (Vv. coccygicae). Von den zur Blutentnahme verwendeten Kanülen (BD Microlance™ 3, 24 G, 0,55 mm x 25 mm, Becton Dickinson GmbH, Deutschland) wurde vor der Entnahme - zur Verhinderung einer Gerinnung des Blutes - der Kunststoffkonus abgebrochen. Den Tieren wurde pro Entnahmezeitpunkt ein Blutvolumen von ca. 0,5 ml entnommen.

Als standardisierter Stressor wurde ACTH eingesetzt. Hierzu wurde synthetisches ACTH (Synacthen®, Tetracosactid-hexaacetat, Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland) bezogen. Die ACTH-Applikation erfolgte in einer Dosierung von 100 µg/kg Körpergewicht. Um eine präzise Dosierung vornehmen zu können, wurde mit isotonischer Natriumchloridlösung eine Verdünnung von 1 : 4 hergestellt (Isotonische Natriumchlorid-Lösung ad us. vet., DeltaSelect GmbH, Pfullingen, Deutschland). Durch die Verdünnung ergab sich eine Applikationsmenge von 0,2 ml/100 g Körpergewicht. Die ACTH-Injektion erfolgte intraperitoneal (BD Microlance™ 3, 23 G, 0,6 mm x 30 mm, Becton Dickinson GmbH, Deutschland) im Bereich der rechten Schenkelfalte unmittelbar nach der ersten Blutentnahme.

Um ein ausreichendes Blutvolumen für den Pool als konstanten Vergleichswert des ELISAs zu erhalten, wurde ein Teil der Tiere nach Beendigung der Blutentnahme mittels Guillotine (Herkunft: Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried) dekapitiert und ihr Blut in Reagenzgläsern aufgefangen.

Nach Beendigung des ACTH-Tests wurden die Tiere aus dem Versuch ausgeschlossen.

3.3.6 Entnahmezeitpunkte der Blutproben

Die erste Blutentnahme erfolgte zum Zeitpunkt t₀ vor ACTH-Injektion (Synacthen® verdünnt, Wirkstoff: Tetracosactid-hexaacetat, Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland) um 9.00 Uhr MEZ. Alle weiteren Entnahmen erfolgten 15 (t₁₅), 30 (t₃₀), 45 (t₄₅), 60 (t₆₀), 90 (t₉₀) und 120 (t₁₂₀) Minuten nach ACTH-Injektion.

3.3.7 Blutprobenverarbeitung und Probenmessung mittels ELISA

Die Zentrifugation und weitere Verarbeitung erfolgt 30 bis 45 Minuten nach der letzten Blutentnahme (t120).

1. Probenzentrifugation (10 min., 2000 x g, 4°C, Biofuge stratos, Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland)
2. Pipetieren des Serums in 0,5 ml Eppendorf Tubes (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
3. Probenzentrifugation (5 min., 4000 x g, 15°C, Biofuge stratos, Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland)
4. Aliquotieren der Serumproben in Portionen zu 100 µl in Eppendorf Tubes (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
5. Lagerung der Serumproben bei -20 °C

3.3.8 Herstellung des Serumpools

Zur Gewinnung des Pools wurden die durch Dekapitation gewonnenen Blutproben verwendet.

1. Probenzentrifugation (10 min., 2000 x g, 4°C, Biofuge stratos, Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland)
2. Pipetieren des Serums in ml Tubes
3. Probenzentrifugation (5 min., 4000 x g, 15°C, Biofuge stratos, Thermo Electron LED GmbH, Langenselbold, Deutschland)
4. alle Serumproben wurden in einen 15 ml Falcon pipetiert und vermischt (Vortex-Genie 2, Scientific Industries)
6. Pipetieren der Serumproben in Portionen von je 80 µl in Eppendorf Tubes (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
5. Lagerung der Poolproben bei -20 °C

3.4 Probenmessung des Kortikosterons mittels ELISA

3.4.1 Prinzip des ELISAs

Die Messung des Kortikosterons erfolgte mittels eines auf kompetitiver Basis arbeitenden, kommerziellen ELISAs (Active® Rat Corticosterone, DSL-10-81100), der von der Firma Diagnostic Systems Laboratories Inc. (Texas, USA) hergestellt wurde.

Die ELISA-Platte war mit einer definierten Menge Antikörper (Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG) beschichtet. Das Antiserum mit spezifischem Antikörper (Kaninchen-Anti-Ratte-Kortikosteron-Antikörper), das hinzu gegeben wird, bindet an den Beschichtungsantikörper. Das Probenkortikosteron im Rattenserum und ein Peroxidase-markiertes Antigen konkurrieren um die Bindungsstellen dieses spezifischen Antikörpers. Bei einer niedrigen Konzentration an nativem Kortikosteron in der Ratten-Serumprobe kann folglich eine größere Menge des Peroxidase-markierten Antigens binden. Durch einen Waschvorgang werden nach einer Inkubationszeit ungebundene Antigene entfernt.

Durch Zugabe eines Chromogensubstrates entsteht eine blaue Färbung. Diese Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure gestoppt und es resultiert ein Farbumschlag nach gelb.

Zur Bestimmung der nativen Kortikosteronkonzentration in den Serumproben der Versuchstiere wird durch ein Plattenphotometer die optische Dichte bei 450 nm gemessen, die indirekt proportional zur Kortikosteronkonzentration der untersuchten Proben ist.

3.4.2 Durchführung des ELISAs

Die Durchführung des ELISAs (Active® Rat Corticosterone EIA, DSL-10-81100, Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Texas, USA) erfolgte gemäß den Herstellerangaben.

1. Serumproben und ELISA-Reagenzien auf Raumtemperatur (~ 25°C) bringen
2. alle Serumproben und Reagenzien sind vor Gebrauch zu mischen (Vortex-Genie 2, Scientific Industries)

3. Pipetieren (Finnpipette® und Finntip®, Thermo Electron corporation) der Standardlösungen mit vorgegebener Kortikosteronkonzentration, der Kontrollen, des Pools und der Serumproben in die entsprechenden Kavitäten
4. Herstellung der Kortikosteron-Enzym-Konjugat-Lösung
5. Zugabe der Enzym-Konjugat-Lösung in alle Kavitäten
6. Pipetieren (Finnpipette®, Labsystems) des Antiserums in alle Kavitäten
7. 60 min. Inkubation auf Shaker (MS1 Minishaker, IKA®, IKA-Works, INC.) bei 500 rpm
8. gesamte Platte fünfmal in Folge mit Waschlösung mittels plate-washer (Auto Plate Washer, ELX 405, Bio-Tek Instruments, INC., USA) waschen und Flüssigkeitsreste stets vollständig entfernen
9. Pipetieren (Finnpipette®, Labsystems) der TMB-Lösung in alle Kavitäten
10. 15-20 min. Dunkel-Inkubation auf dem Shaker (MS1 Minishaker, IKA®, IKA-Works, INC.) bei 500 rpm
11. Pipetieren (Finnpipette®, Labsystems) der Stopp-Lösung in alle Kavitäten
12. Photometrische Absorptionsmessung bei 450 nm mittels des Absorptionsmessgerätes GENios (Tecan Austria GmbH, Salzburg, Österreich)
13. die Erstellung der Standardkurve erfolgte mittels Mikrowin 2000 Software

Die genauen Mengenangaben der jeweiligen Reagenzien sind den Herstellerangaben des ELISAs zu entnehmen.

Eine ELISA-Platte umfasste 96 Kavitäten. Die Kavitäten wurden jeweils mit Doppelansätzen befüllt. Es ergab sich daraus folgende Bestückung der Kavitäten: zwölf Kavitäten mit Standard-Reagenzien, vier Kavitäten mit Kontroll-Reagenzien, zwei Kavitäten mit Poolproben, 70 Kavitäten mit Serumproben und acht Kavitäten mit Wiederholungen von früheren Platten.

Pro Platte konnten die Kortikosteronwerte von fünf Tieren bestimmt werden (sieben Serumproben je Tier im Doppelansatz), wobei auf einer Platte ausschließlich die Werte von Tieren aus der gleichen Expositionskammer bestimmt wurden.

Messungen, deren Einzelwerte eine Variation von $> 20\%$ aufwiesen, oder die außerhalb des Optimalbereichs der Standardkurve lagen, wurden wiederholt. Aus den beiden Einzelwerten wurde jeweils der Mittelwert gebildet und statistisch analysiert.

3.5 Statistische Auswertung

Die biometrische Planung des Hauptversuchs und die Auswahl der statistischen Testverfahren erfolgte anhand eines biometrischen Gutachtens des Instituts für Statistik (StaBLab) der LMU München.

Die statistischen Tests wurden mittels SPSS 14 durchgeführt. Die Erstellung der Grafiken erfolgte mittels SigmaPlot 9.01.

Bei der statistischen Auswertung der Serumkortikosteronkonzentrationen der einzelnen Generationen wurde mit jeweils einer univariaten Varianzanalyse untersucht, welchen Einfluss die Expositionsart und die Gruppe haben. Später wurde durch das Hinzunehmen der Blutentnahmedauer und des Körpergewichtes zum Untersuchungszeitpunkt überprüft, ob diese Variablen zusätzlich einen Einfluss in einer bestimmten Generation auf die festgelegten Zielgrößen haben. Die Zielgrößen waren: die Größe der AUC (Area under Curve), die Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t_0 (cort t_0) und die Differenz zwischen der maximal erreichten Kortikosteronkonzentration und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t_0 (Cort_Diff_Max_Basal). Zusätzlich erfolgte eine statistische Auswertung der Zeitpunkte, an denen die Einzeltiere ihre maximale Serumkortikosteronkonzentration erreichten.

Als AUC wird die Fläche definiert, die einerseits durch den Kurvenverlauf der Kortikosteronkonzentration über der Zeit, durch eine Parallele zur x-Achse (Zeit) durch den Schnittpunkt des Kurvenverlaufs mit der y-Achse (Serumkortikosteronkonzentration) zum Zeitpunkt t_0 und durch eine Parallele zur y-Achse zum Zeitpunkt t_{120} festgelegt wird (Abb. 8).

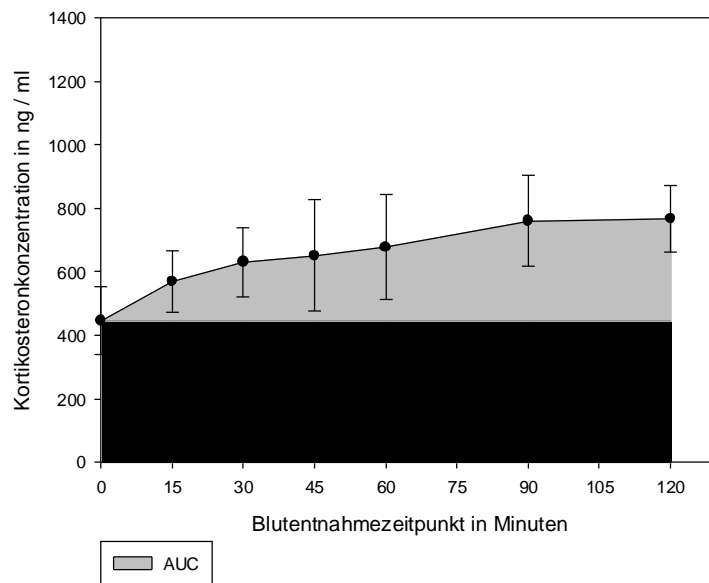


Abb. 8: graphische Darstellung der AUC am Beispiel des Kortikosteronverlaufes unter GSM-Exposition in der Generation F0a

Bei den durchgeführten Tests handelte es sich um F-Tests. Ergab der F-Test, dass die Einflussgröße einen signifikanten Erklärungswert besitzt, so wurden zusätzlich t-Tests zum paarweisen Vergleich der einzelnen Gruppen durchgeführt.

Ein Effekt wurde als signifikant beurteilt, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ war.

IV. Ergebnisse

1. Vorversuch

Der Verlauf der Mittelwerte der Kortikosteronkonzentration der verschiedenen Untersuchungsgruppen über der Zeit ist in Abb. 9 dargestellt. Zur besseren Überschaubarkeit der graphischen Darstellung werden die Entnahmezeitpunkte in den Graphiken im Gegensatz zu den tatsächlichen Entnahmezeitpunkten (t0, t15, t30, t45, t60, t90, t120) um einige Minuten gegeneinander versetzt dargestellt. Der Mittelwert der Kortikosteronkonzentration steigt bei den Tieren unter Isofluran-Narkose vom Zeitpunkt t0 bis zum Zeitpunkt t30 an, fällt in der Zeitspanne von t30 bis t60 ab und steigt in der Zeitspanne t60 bis t120 erneut an. Bei den Tieren unter Halothan-Narkose steigt der Mittelwert der Kortikosteronkonzentration bis zum Zeitpunkt t90 an und fällt in der Zeitspanne zwischen t90 und t120 ab. Der Mittelwert der Kortikosteronkonzentration steigt bei den wachen Tieren bis zum Zeitpunkt t30 an und fällt bis zum Zeitpunkt t60 ab.

Die genauen Zahlenangaben zu den Mittelwerten und Standardabweichungen, die der graphischen Darstellung als Grundlage dienen, sind Tab. 12 zu entnehmen.

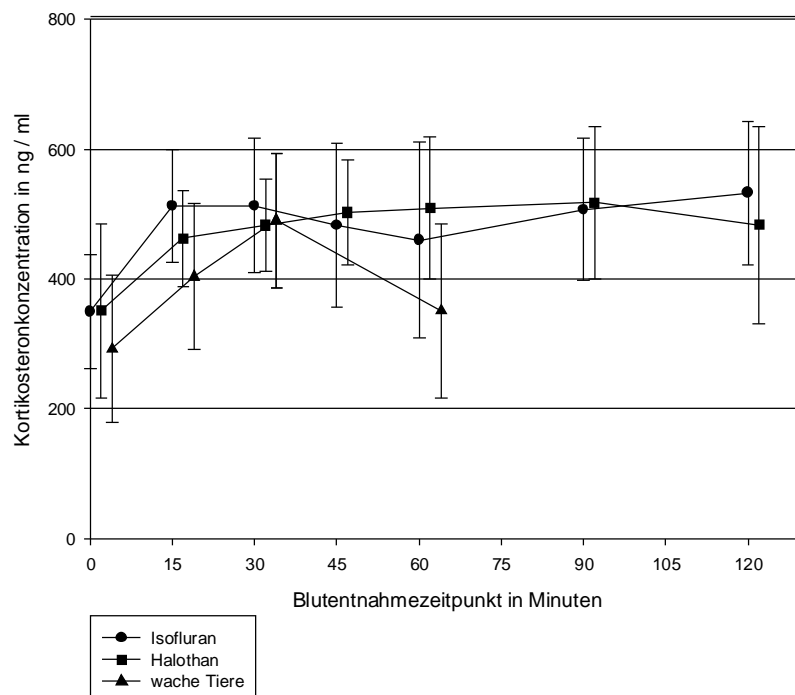


Abb. 9: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen WACHE TIERE (n = 30), ISOFLURAN (n = 10) und HALOTHAN (n = 10) in ng/ml

Tab. 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration (in ng/ml) zu den unterschiedlichen Blutentnahmezeitpunkten

		t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120
Isofluran	MW	349,8	512,6	513,3	482,6	460,1	507,2	533,1
	SD	87,7	86,6	103,4	126,1	150,5	109,2	110,4
Halothan	MW	351,3	462,3	483,1	502,7	509,4	517,8	483,6
	SD	133,8	73,1	71,2	80,3	109,0	118,0	152,3
wache Tiere	MW	292,8	403,9	490,2		355,0		
	SD	112,9	112,9	104,0		141,5		

Zum Zeitpunkt t0 kann mit der durchgeführten ANOVA kein signifikanter Unterschied ($p = 0,227$) der Kortikosteronkonzentration in Abhängigkeit von der Narkoseart während der Blutentnahme festgestellt werden. Der Mittelwert der Kortikosteronkonzentration in den verschiedenen Untersuchungsgruppen liegt zum Zeitpunkt t0 unter Isofluran-Narkose bei 349,8 ng/ml, unter Halothan-Narkose bei 351,3 ng/ml und bei den wachen Tieren bei 292,8 ng/ml (Abb. 10).

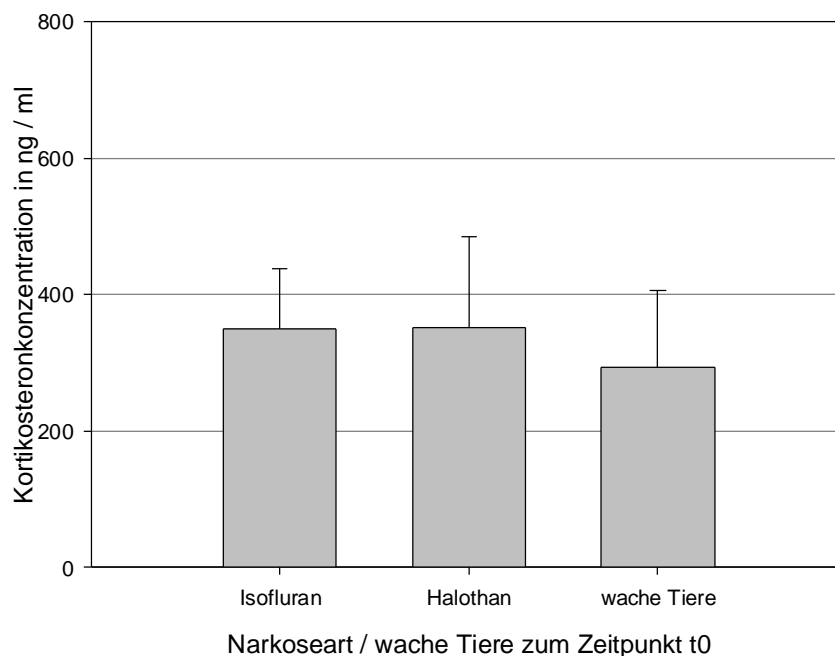


Abb. 10: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen WACHE TIERE ($n = 30$), ISOFLURAN ($n = 10$) und HALOTHAN ($n = 10$) in ng/ml

Zum Zeitpunkt t15 kann mittels post hoc Tukey-Test festgestellt werden, dass die Kortikosteronkonzentration der Tiere unter Isofluran-Narkose signifikant ($p = 0,038$) höher als bei den wachen Tieren liegt. Der Mittelwert der Kortikosteronkonzentration liegt zum Zeitpunkt t15 bei den Tieren unter Isofluran-Narkose bei 512,6 ng/ml, bei den Tieren unter Halothan-Narkose bei 464,3 ng/ml und bei den wachen Tieren bei einem Wert von 403,9 ng/ml (Abb. 11).

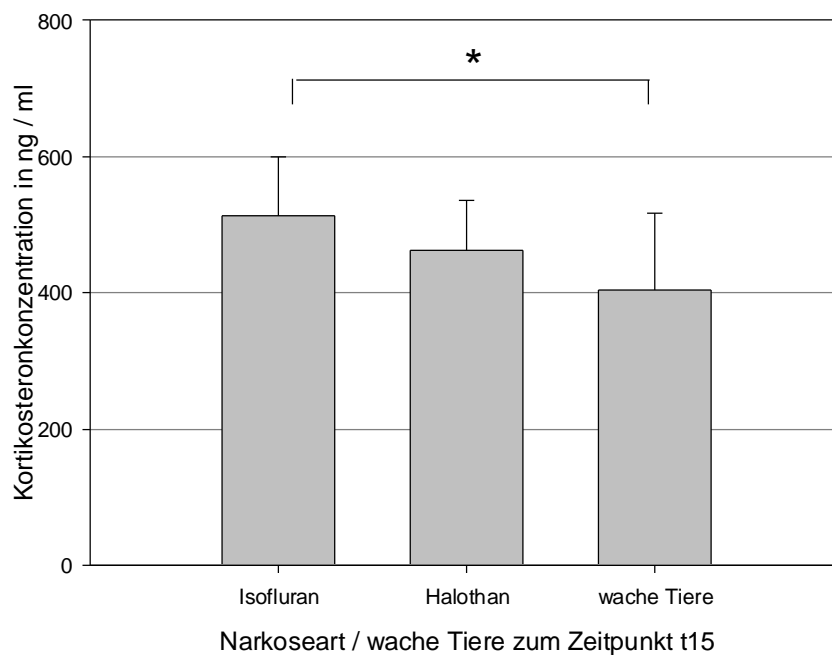


Abb. 11: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t15 der Versuchsgruppen WACHE TIERE ($n = 30$), ISOFLURAN ($n = 10$) und HALOTHAN ($n = 10$) in ng/ml ($p = 0,038$)

Zum Zeitpunkt t30 kann kein signifikanter Unterschied ($p = 0,767$) zwischen den drei Versuchsgruppen festgestellt werden. Die Mittelwerte der Kortikosteronkonzentrationen in den verschiedenen Untersuchungsgruppen verteilen sich zum Zeitpunkt t30 wie folgt: Isofluran: 513,3 ng/ml, Halothan: 483,1 ng/ml, wache Tiere: 490,2 ng/ml (Abb. 12).

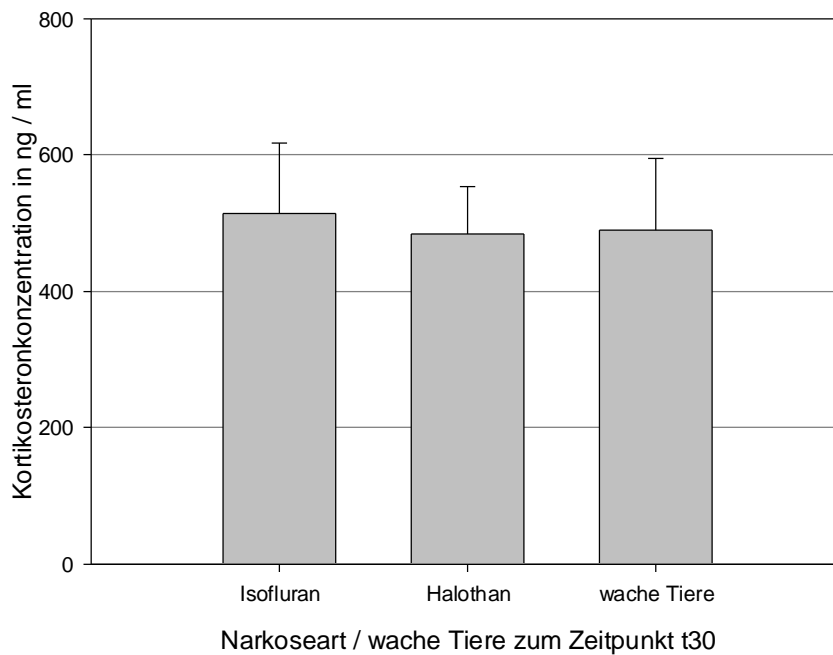


Abb. 12: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t30 der Versuchsgruppen WACHE TIERE (n = 30), ISOFLURAN (n = 10) und HALOTHAN (n = 10) in ng/ml

Zum Zeitpunkt t60 kann mittels post hoc Tukey-Test festgestellt werden, dass die Kortikosteronkonzentration der Tiere unter Halothan-Narkose signifikant (p-Wert = 0,032) höher ist als bei den wachen Tieren. Der Mittelwert der Kortikosteronkonzentration liegt zum Zeitpunkt t60 bei den Tieren unter Halothan-Narkose bei 509,4 ng/ml, bei den Tieren unter Isofluran-Narkose bei 460,1 ng/ml und bei den wachen Tieren bei einem Wert von 355,0 ng/ml (Abb. 13).

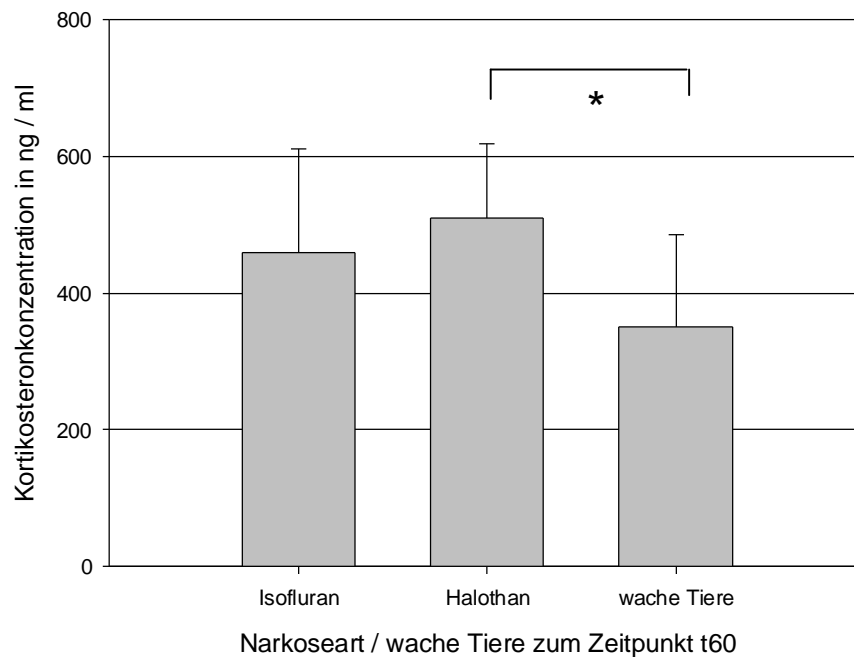


Abb. 13: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t60 der Versuchsgruppen WACHE TIERE (n = 30), ISOFLURAN (n = 10) und HALOTHAN (n = 10) in ng/ml (p-Wert = 0,032)

In allen Versuchsgruppen erfolgt nach Analyse durch eine Repeated measurement ANOVA nach ACTH-Applikation ein signifikanter Anstieg der Kortikosteronkonzentration (Isofluran: $p = 0,001$, Halothan: $p = 0,004$, wache Tiere: $p = 0,001$) zwischen dem Zeitpunkt t0 und t15. Die Mittelwerte der Kortikosteronkonzentration der unterschiedlichen Versuchsgruppen liegen jeweils zum Zeitpunkt t0 niedriger als zum Zeitpunkt t15 (t0: Isofluran: 349,8 ng/ml, Halothan: 351,3 ng/ml, wache Tiere: 292,8 ng/ml, t15: Isofluran: 512,6 ng/ml, Halothan: 464,3 ng/ml, wache Tiere: 403,9 ng/ml; Abb. 14).

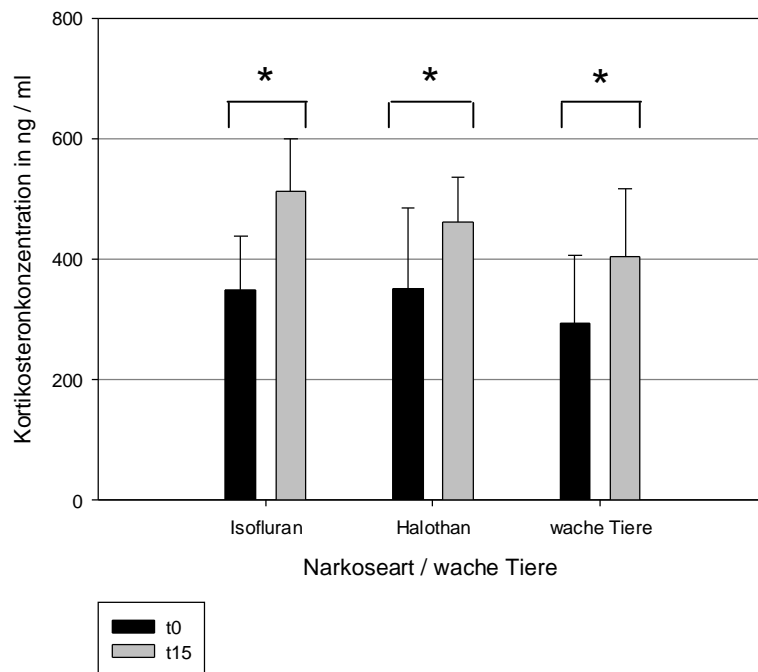


Abb. 14: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 und t15 der Versuchsgruppen WACHE TIERE (n = 30), ISOFLURAN (n = 10) und HALOTHAN (n = 10) in ng/ml (Isofluran: p = 0,001, Halothan: p = 0,004, wache Tiere: p = 0,001)

Bei dem Vergleich der absoluten Werte der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t15 und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 kann zwischen den Versuchsgruppen mittels ANOVA kein signifikanter Unterschied (p-Wert = 0,723) nachgewiesen werden. Der Mittelwert des absoluten Wertes der Differenz liegt bei den Tieren unter Isofluran-Narkose bei 162,8 ng/ml, bei den Tieren unter Halothan-Narkose bei 117,2 ng/ml und bei den wachen Tieren bei 148,1 ng/ml (Abb. 15).

Der Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t30 und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 ergibt zwischen den Versuchsgruppen keinen signifikanten Unterschied (p = 0,723). Der Mittelwert des absoluten Wertes der Differenz liegt bei den Tieren unter Isofluran-Narkose bei 163,5 ng/ml, bei den Tieren unter Halothan-Narkose bei 131,3 ng/ml und bei den wachen Tieren bei 155,7 ng/ml (Abb. 15).

Auch bei dem Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t60 und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 kann zwischen den Versuchsgruppen kein signifikanter Unterschied

($p = 0,499$) nachgewiesen werden. Der Mittelwert des absoluten Wertes der Differenz liegt bei den Tieren unter Isofluran-Narkose bei 110,3 ng/ml, bei den Tieren unter Halothan-Narkose bei 152,7 ng/ml und bei den wachen Tieren bei 63,0 ng /ml (Abb. 15).

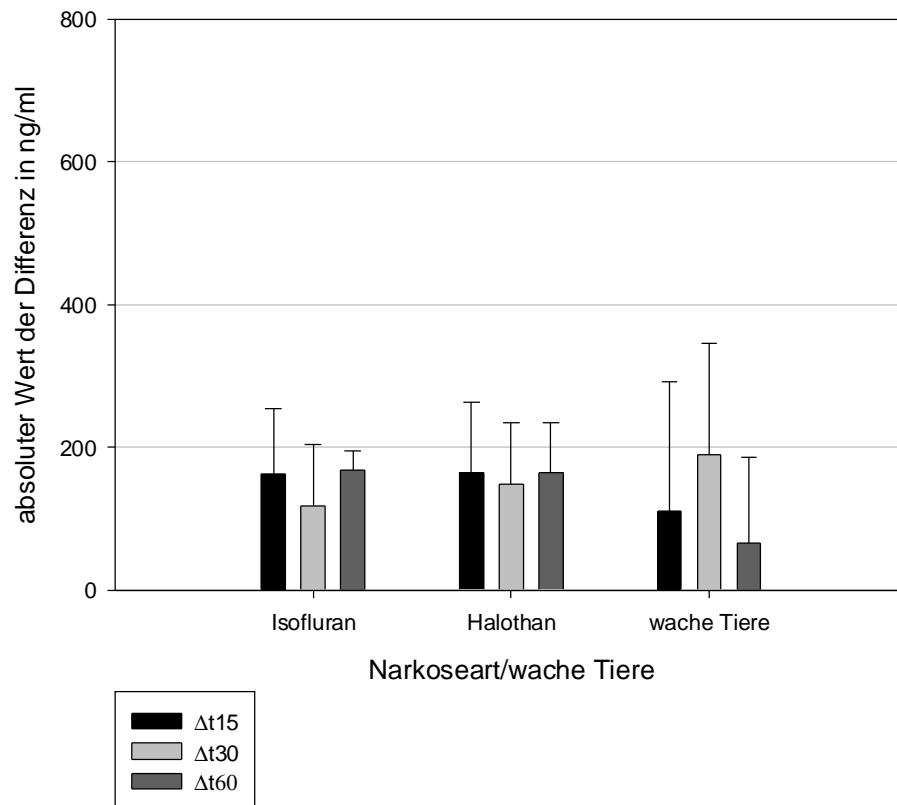


Abb. 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Werte der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t15, t30 und t60 und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 in ng/ml bei den Versuchsgruppen WACHE TIERE (n = 30), ISOFLURAN (n = 10) und HALOTHAN (n = 10)

Die Fläche der AUC vom Zeitpunkt t0 bis zum Zeitpunkt t60 ist bei den wachen Tieren mit 11931,8 niedriger als bei den narkotisierten Tieren (Isofluran: 28702,5, Halothan: 28180,5).

2. Hauptversuch

2.1 Definition der im Ergebnisteil verwendeten Begriffe und Abkürzungen

Basalkonzentration: Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme zum Zeitpunkt t_0

Maximalkonzentration: maximale Kortikosteronkonzentration unabhängig vom Blutentnahmezeitpunkt

t_0 : Zeitpunkt der ersten Blutentnahme

t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{60} , t_{90} , t_{120} : Zeitpunkt der Blutentnahme 15, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten nach ACTH-Applikation

t_{Max} : Zeitpunkt der Maximalkonzentration – kann zum Zeitpunkt t_0 , t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{60} , t_{90} oder t_{120} sein

Δt : Blutentnahmedauer

Diff_Cort_Max_Basal: Wert der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t_{Max} und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t_0

Boxplot: Diese Art Diagramm wird zur graphischen Darstellung eines Teiles der Ergebnisse gewählt. Die Box eines Plots wird vom ersten und dritten Quartil (25 % und 75 % Perzentil) begrenzt. Die innere Linie einer Box repräsentiert den Median. Zusätzlich wird das 10 % und 90 % Perzentil angegeben. Werte, die außerhalb des 10 %- und 90 %-Perzentil-Bereiches liegen, werden als Extremwerte mit einem Punkt gekennzeichnet.

*****: Signifikanzen werden mit einem Stern gekennzeichnet.

2.2 Analyse der AUC

2.2.1 Generation F0a

In die Untersuchungen der AUC der Generation F0a wurden 83 Tiere einbezogen. Davon waren 23 Tiere GSM-, 25 Tiere UMTS- und 35 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung des Effektes der Exposition auf die Größe der AUC ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen den unterschiedlichen

Expositionsgruppen ($p = 0,374$). Die statistische Auswertung nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ zeigt, dass auch das Körpergewicht zum Versuchszeitpunkt ($p = 0,883$) und die Interaktion zwischen Körpergewicht und Exposition (Expo * Gewicht) keinen signifikanten Einfluss ($p = 0,461$) haben (Tab. 13, Tab. 14).

Die graphische Darstellung des Kortikosteronverlaufes über der Zeit ist der Abb. 16 zu entnehmen. Die graphische Gegenüberstellung der Mittelwerte der absoluten Größe der AUC ist in Abb. 17 dargestellt.

Die Gewichtsverteilung zum Versuchszeitpunkt ist in Abb. 18 graphisch dargestellt. Aus Tab. 15 sind die der Abb. 18 zugrundeliegenden Zahlenwerte ersichtlich.

Tab. 13: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC

	Effekt	p-Wert
Generation F0a	Exposition	0,374
	Gruppe	0,054

Tab. 14: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC unter Einbeziehung des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt und der Exposition-Gewicht-Interaktion

	Effekt	p-Wert
Generation F0a	Exposition	0,513
	Gruppe	0,087
	Gewicht	0,883
	Expo * Gewicht	0,461

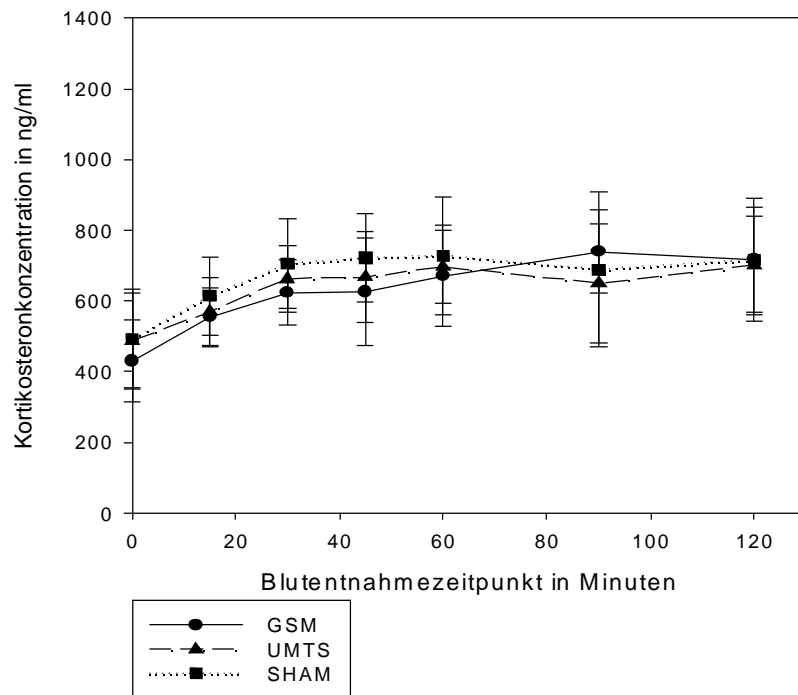


Abb. 16: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (N = 25) und SHAM (n = 35) in ng/ml in der Generation F0a

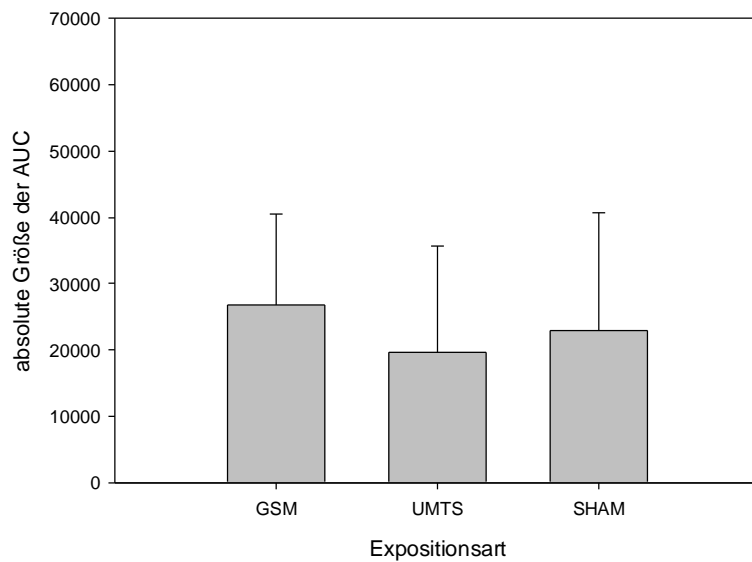


Abb. 17: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Größe der AUC (t0 bis t120) der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 25) und SHAM (n = 35) in der Generation F0a

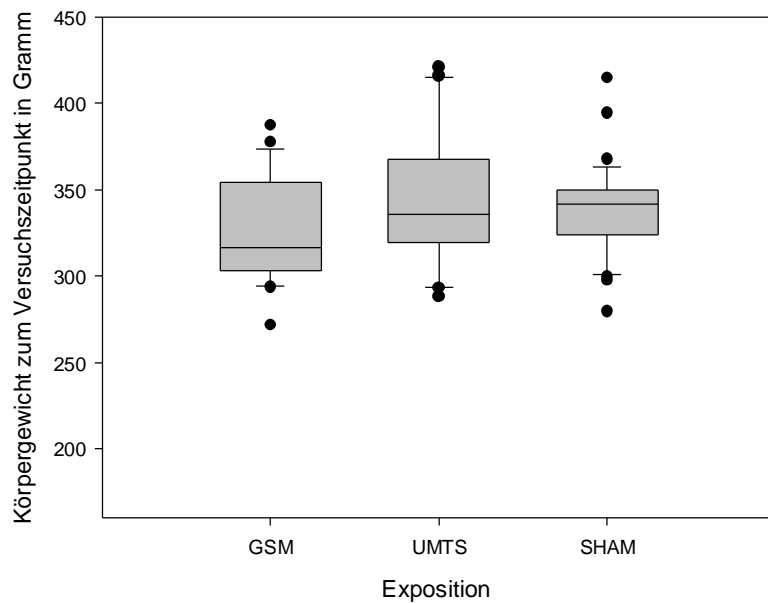


Abb. 18: Darstellung des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt in Gramm der Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 25) und SHAM (n = 35) in der Generation F0a

Tab. 15: Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima des Gewichtes in der Generation F0a

Gewicht in g	GSM	UMTS	SHAM
Mittelwert	325,7	344,9	337,5
Standardabweichung	29,2	39,5	26,7
Maximum	387,2	420,90	414,8

2.2.2 Generation F0b

In die Untersuchungen der AUC der Generation F0b wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 27 Tiere GSM-, 24 Tiere UMTS- und 33 Tiere SHAM-exponiert.

Mit Hilfe der statistischen Auswertung des Effektes der Exposition auf die Größe der AUC kann ein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,010$) auf die Variable AUC nachgewiesen werden. Die errechnete Fläche der AUC der GSM-exponierten Tiere ist um 13512,5, die der UMTS-exponierten Tiere um 5671,4 größer als die der SHAM-exponierten Tiere (Tab. 16, Tab. 17). Zur Überprüfung eventueller Gewichtseinflüsse wurden das Gewicht zum Versuchszeitpunkt und die Interaktion zwischen Exposition und Gewicht auf die absolute Größe der AUC ins Modell aufgenommen. Nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ ist kein signifikanter

Einfluss der Exposition ($p = 0,076$), der Gruppe ($p = 0,772$), des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt ($p = 0,468$) oder der Interaktion zwischen Exposition und Gewicht ($p = 0,111$) auf die Größe der AUC in dieser Generation nachzuweisen (Tab. 18).

Die graphische Darstellung des Kortikosteronverlaufes über der Zeit ist den Abb. 19 entnehmen. Die graphische Gegenüberstellung der Mittelwerte der absoluten Größe der AUC nach Expositionsart und Gruppe ist in Abb. 20 zu finden.

Die Gewichtsverteilung ist in Abb. 21 graphisch dargestellt. Die zugrundeliegenden Zahlenangaben finden sich in Tab. 19.

Tab. 16: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC

	Effekt	p-Wert
Generation F0b	Exposition	0,010
	Gruppe	0,893

Tab. 17: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F0b	Exposition	GSM	13512,505	0,003
		UMTS	5671,364	0,209
		SHAM	0	.

Tab. 18: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC unter Einbeziehung des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt und der Exposition-Gewicht-Interaktion

	Effekt	p-Wert
Generation F0b	Exposition	0,076
	Gruppe	0,772
	Gewicht	0,468
	Expo * Gewicht	0,111

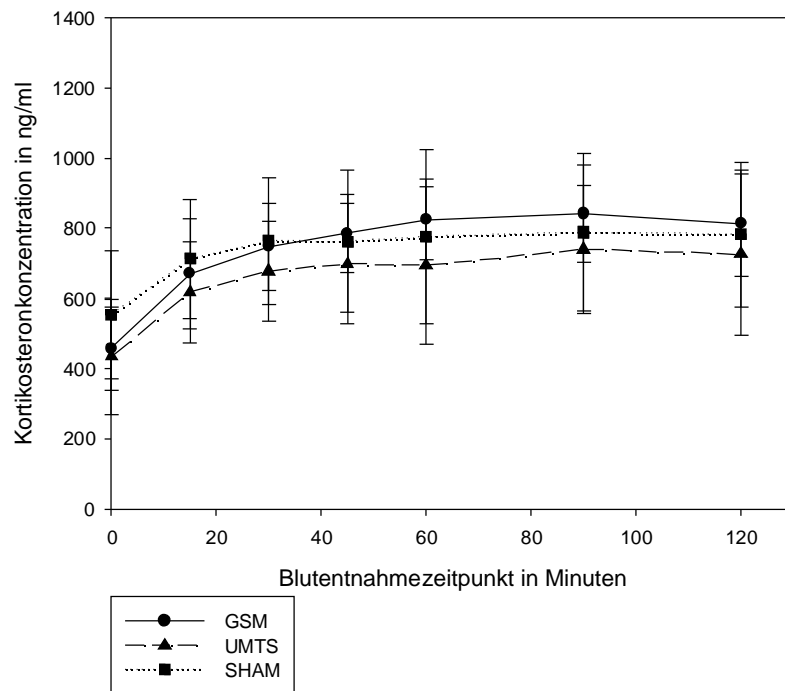


Abb. 19: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in ng/ml in der Generation F0b

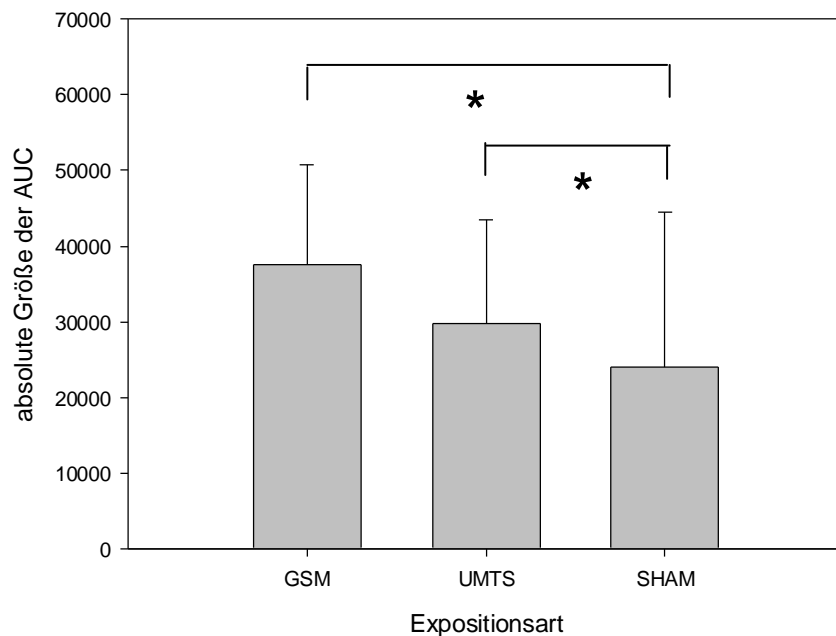


Abb. 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Größe der AUC (t0 bis t120) der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in der Generation F0b (Einfluss der Exposition: p = 0,010)

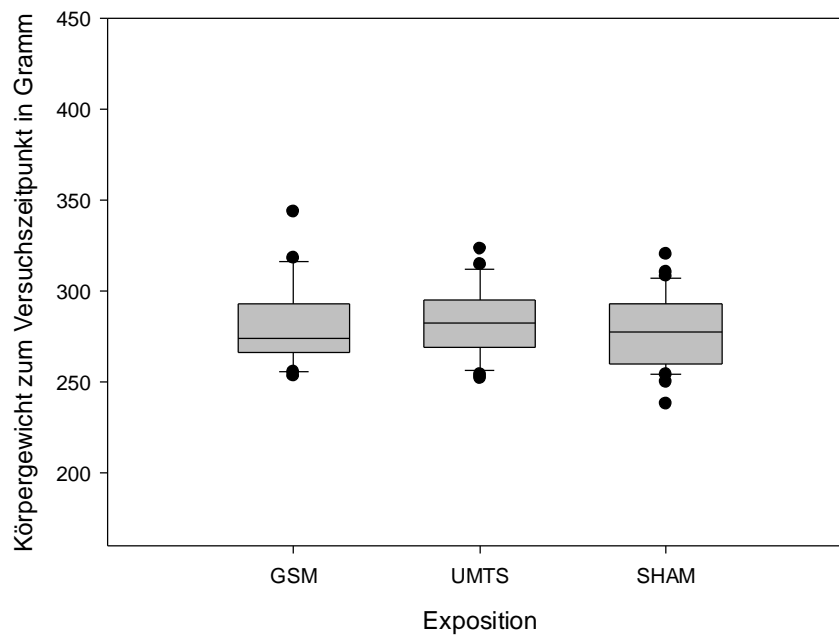


Abb. 21: Darstellung des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt in Gramm der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in der Generation F0b

Tab. 19: Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima des Gewichtes in der Generation F0b

Gewicht in g	GSM	UMTS	SHAM
Median	280,3	283,1	278,60
Standardabweichung	21,9	18,7	19,8
Maximum	343,9	323,7	320,4

2.2.3 Generation F2

In die Untersuchungen der AUC der Generation F2 wurden 124 Tiere einbezogen. Davon waren 41 Tiere GSM-, 42 Tiere UMTS- und 41 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung des Effektes der Exposition auf die Größe der AUC ergibt in der Generation F2 keinen signifikanten Einfluss der Expositionsart ($p = 0,204$) (Tab. 20).

Nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ kann ein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,004$) und der Interaktion zwischen Exposition und Gewicht ($p = 0,005$) festgestellt werden, d.h. der Einfluss der Exposition ist je nach Gewicht unterschiedlich (Tab. 21, Tab. 22). Für die GSM- und SHAM-Exposition bedeutet dies, dass mit der Gewichtszunahme die Größe der AUC sinkt. Unter UMTS-

Exposition hingegen steigt die Größe der AUC mit zunehmendem Gewicht. Zur Veranschaulichung findet sich eine graphische Darstellung der erwarteten Größe der AUC nach Gewicht in Abb. 24. Die zugrundeliegenden Zahlenwerte sind aus Tab. 23 ersichtlich.

Die Darstellung des Kortikosteronverlaufes über der Zeit ist der Abb. 22 zu entnehmen. Die graphische Gegenüberstellung der Mittelwerte der absoluten Größe der AUC ist in Abb. 23 dargestellt.

Die Gewichtsverteilung ist in Abb. 25 graphisch dargestellt. Die zugrundeliegenden Zahlenangaben finden sich in Tab. 24.

Tab. 20: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC

	Effekt	p-Wert
Generation F2	Exposition	0,128
	Gruppe	0,204

Tab. 21: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die AUC unter Einbeziehung des Gewichtes zum Versuchszeitpunkt und der Exposition-Gewicht-Interaktion

	Effekt	p-Wert
Generation F2	Exposition	0,004
	Gruppe	0,227
	Gewicht	0,972
	Expo* Gewicht	0,005

Tab. 22: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests unter Berücksichtigung der Exposition-Gewicht-Interaktion

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F2	Exposition	GSM	-71632,678	0,236
		UMTS	-228247	0,001
		SHAM	0	
	Gruppe	1	-4989,772	0,227
		2	0	
	Gewicht		-349,069	0,041
	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
	Exposition * Gewicht	GSM * Gewicht	219,766	0,321
		UMTS * Gewicht	800,932	0,002
		SHAM * Gewicht	0	

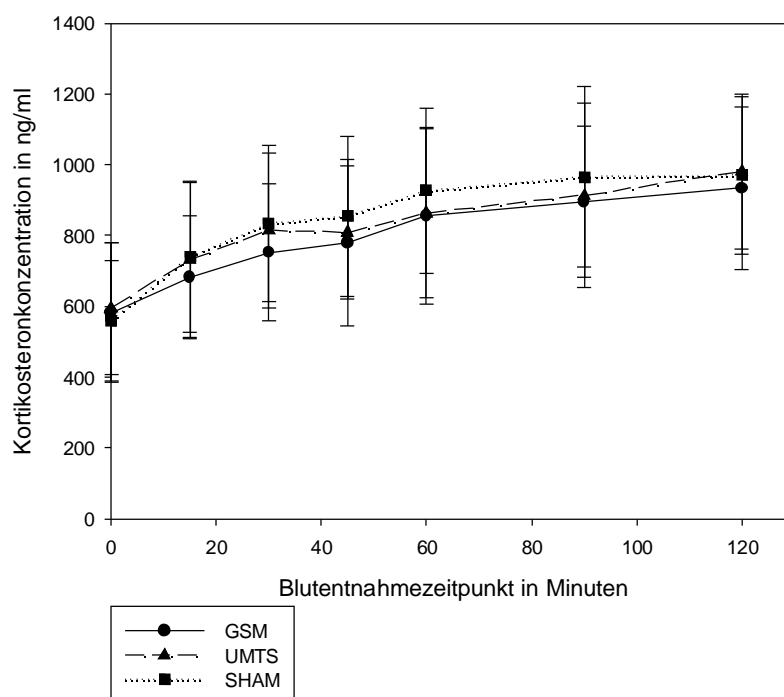


Abb. 22: Konzentrationsverlauf (MW \pm SD) von Kortikosteron der Versuchsgruppen GSM (n = 41), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41) in ng/ml in der Generation F2

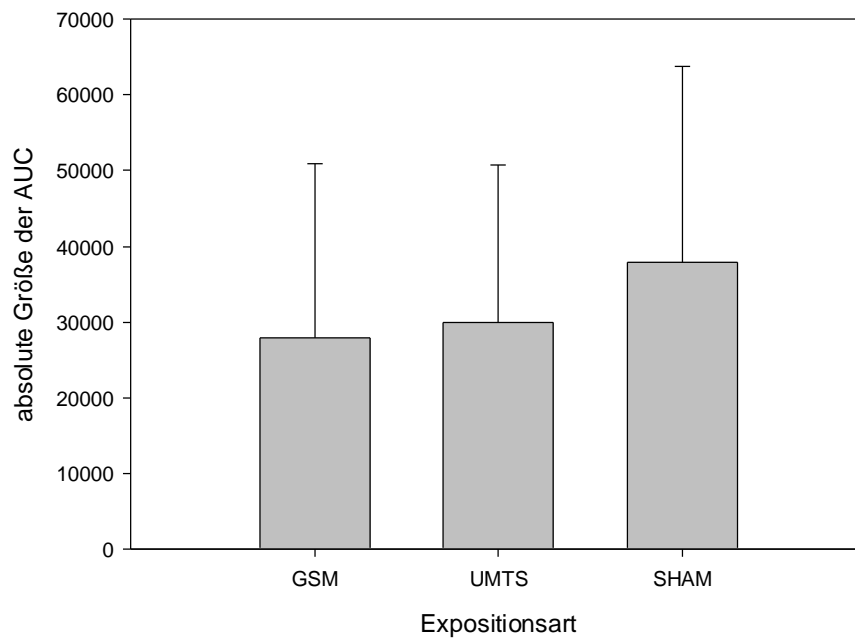


Abb. 23: Mittelwerte und Standardabweichungen der absoluten Größe der AUC (t0 bis t120) der Versuchsgruppen GSM (n = 41), UMTS (n = 41) und SHAM (n = 42) in der Generation F2

Tab. 23: Übersicht über die erwartete Größe der AUC in der Gruppe 2 der Expositionsgruppen in Abhängigkeit vom Einflussfaktor „Gewicht“ (Gruppe 1: alle Werte um 4989,8 niedriger als in Gruppe 2)

Expositionsart	Gewicht in g	erwartete (geschätzte) AUC
GSM	200	39145,2
GSM	293	27120,0
GSM	400	13284,6
UMTS	200	-1236,3
UMTS	293	40787,0
UMTS	400	89136,3
SHAM	200	66824,7
SHAM	293	34361,2
SHAM	400	-2989,1

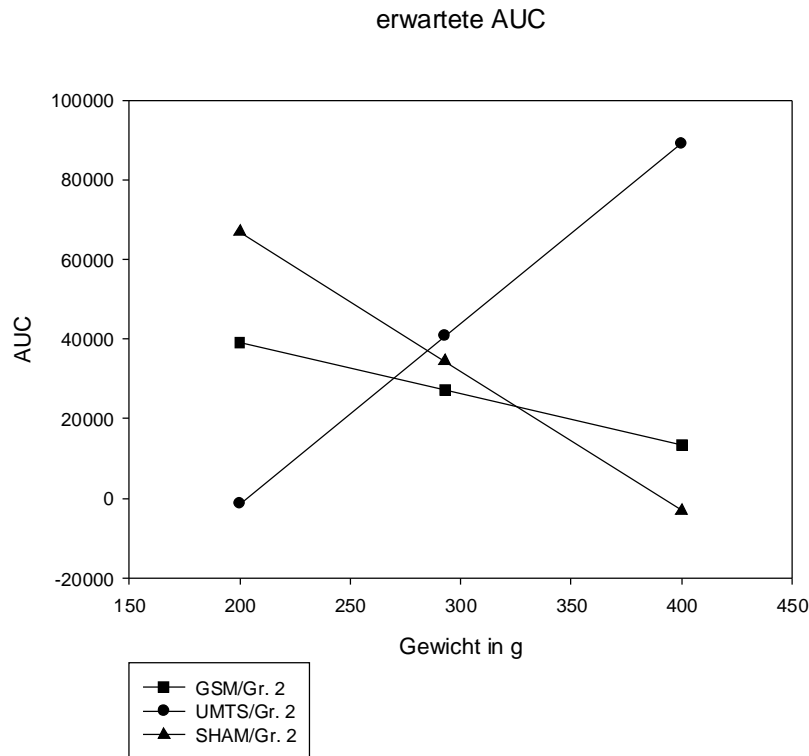


Abb. 24: Darstellung der Mittelwerte der erwarteten Größe der AUC in Abhängigkeit von Expositionsart, Gruppe und Gewicht (Einfluss der Exposition: $p = 0,004$, Einfluss der Interaktion zwischen Exposition und Gewicht: $p = 0,005$) in der Generation F2

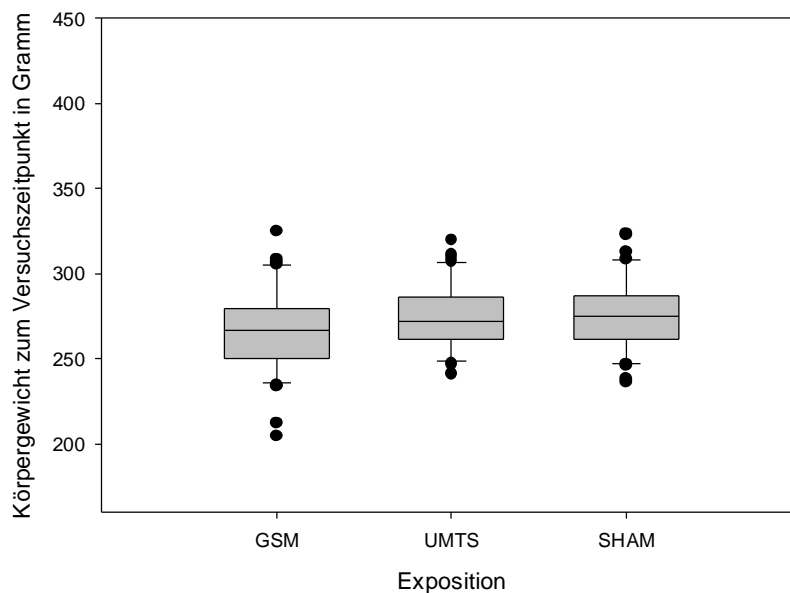


Abb. 25: Darstellung des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt in Gramm der Versuchsgruppen GSM ($n = 41$), UMTS ($n = 42$) und SHAM ($n = 41$) in der Generation F2

Tab. 24: Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima des Gewichtes in der Generation F2

Gewicht in g	GSM	UMTS	SHAM
Mittelwert	267,0	274,5	275,7
Standardabweichung	25,3	19,4	21,1
Maximum	324,8	319,7	323,60

2.2.4 Vergleich der Generationen

In einer weiteren univariaten Varianzanalyse wurde der Einfluss der Exposition, der Gruppe, der Generation und der Interaktion zwischen Exposition und Generation auf die Größe der AUC statistisch ausgewertet.

Hierbei ergibt sich, dass die Exposition ($p = 0,356$) und die Gruppe ($p = 0,928$) keinen signifikanten Einfluss haben. Bei der Generation kann ein signifikanter Einfluss ($p = 0,006$) auf die Größe der AUC nachgewiesen werden. Der Expositionseffekt ist also je nach Generation unterschiedlich (Tab. 25, Tab. 26). Eine graphische Darstellung des Sachverhaltes findet sich in Abb. 26. Die Graphik zeigt einen Unterschied zwischen den Generationen; Generation F0a hat die kleinsten AUCs. Bei welcher Expositionsart die AUC am niedrigsten oder höchsten ist, ist von Generation zu Generation unterschiedlich. In Generation F0a ist die erwartete Größe der AUC der GSM-exponierten Tiere am größten, der UMTS-exponierten am kleinsten, in der Generation F0b ist die erwartete AUC der GSM-exponierten Tiere am größten, der SHAM-exponierten Tiere am kleinsten. In der Generation F2 findet sich der höchste erwartete Wert für die Größe der AUC bei den SHAM-exponierten Tieren, der kleinste Wert bei den GSM-exponierten Tieren. Die der Graphik zugrunde liegenden Werte der AUC der Expositionsgruppen in Abhängigkeit von der Generation sind Tab. 27 zu entnehmen.

Tab. 25: Ergebnis der F-Tests unter Berücksichtigung der Exposition-Generation-Interaktion auf die AUC

	Effekt	p-Wert
	Exposition	0,356
	Gruppe	0,928
	Generation	0,006

Tab. 26: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
	Exposition	GSM	-9915,229	0,023
		UMTS	-7917,305	0,068
		SHAM	0	0,068
	Gruppe	1	-208,599	0,928
		2	0	
	Generation	F0a	14903,003	0,001
		F0b	13803,166	0,003
		F2	0	

Tab. 27: Überblick über die erwartete Größe der AUC in der Gruppe 2 der Expositionsgruppen in Abhängigkeit von der Generation (Gruppe 1: alle Werte um jeweils 208,599 niedriger als in Gruppe 2)

Generation	Expositionsart	Erwartete (geschätzte) AUC
F0a	GSM	26842,5
F0a	UMTS	19737,0
F0a	SHAM	23044,7
F0b	GSM	37728,1
F0b	UMTS	29877,2
F0b	SHAM	24144,5
F2	GSM	28032,5
F2	UMTS	30030,4
F2	SHAM	37947,7

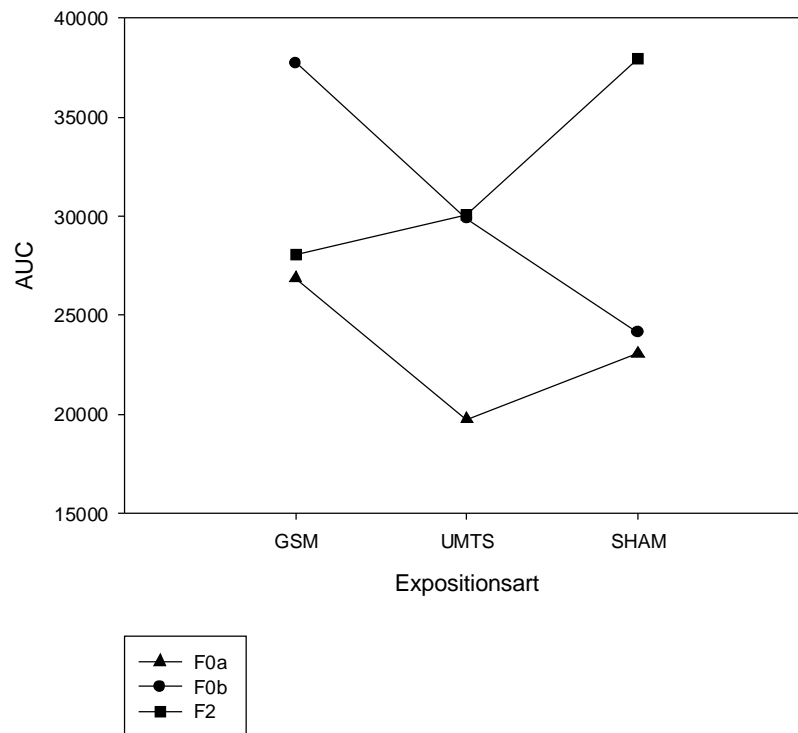


Abb. 26: Darstellung der Mittelwerte der erwarteten Größe der AUC in Abhängigkeit von der Generation

2.2.5 Deskriptive Statistik der AUC

Eine statistische Auswertung eines potentiellen Unterschiedes der Größe der AUC zwischen den unterschiedlichen Generationen einer Expositionsart wurde nicht durchgeführt. Eine Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima der Größe der AUC ist je nach Expositionsart und Generation den Tab. 28, 29 und 30 zu entnehmen.

Tab. 28: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen absoluten Größe der AUC der GSM-exponierten Tiere

<u>AUC</u>	GSM F0a	GSM F0b	GSM F2
Mittelwert	26715,5	37612,3	27925,7
Standardabweichung	13680,1	13156,8	23060,8
Maximum	52627,2	65422,0	81425,8

Tab. 29: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen absoluten Größe der AUC der UMTS-exponierten Tiere

AUC	UMTS F0a	UMTS F0b	UMTS F2
Mittelwert	19627,6	37612,3	29926,1
Standardabweichung	15978,0	13691,0	20906,3
Maximum	51968,0	53003,1	68124,1

Tab. 30: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen absoluten Größe der AUC der SHAM-exponierten Tiere

AUC	SHAM F0a	SHAM F0b	SHAM F2
Mittelwert	22937,5	24049,8	37840,9
Standardabweichung	17660,0	20472,2	25930,5
Maximum	63870,5	66330,4	88479,9

2.3 Basalkonzentration

2.3.1 Allgemeines

Statistisch ausgewertet wurde ein potentieller Einfluss der Variablen Expositionsart (GSM, UMTS, SHAM) und Gruppe (aus arbeitstechnischen Gründen waren alle Generationen in je 2 Gruppen unterteilt, die im Abstand von 4 Wochen gezeugt, geboren, sowie untersucht wurden; die Tiere beider Gruppen waren somit zu Versuchsbeginn gleich alt und gleich lange exponiert) auf die Basalkonzentrationen der einzelnen Generationen. Die Untersuchung dieser Zielgrößen erfolgte, um einen Vergleich der Ausgangskonzentrationen durchführen zu können und um potentielle Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Expositionsarten feststellen zu können.

2.3.2 Generation F0a

In die Untersuchungen zur Basalkonzentration der Generation F0a wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 23 Tiere GSM-, 26 Tiere UMTS- und 35 Tiere SHAM-exponiert.

Die basale Kortikosteronkonzentration der Generation F0a wird weder durch die Exposition ($p = 0,207$) noch durch die Gruppe ($p = 0,289$) beeinflusst (Tab. 31, Abb. 27).

Tab. 31: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0a)

	Effekt	p-Wert
Generation F0a	Exposition	0,207
	Gruppe	0,289

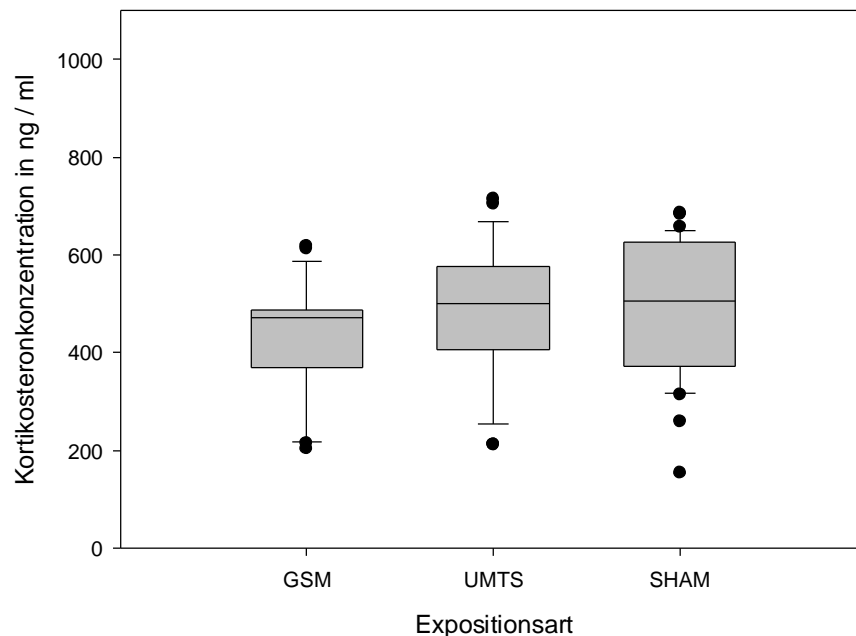


Abb. 27: Vergleich der Basalkonzentrationen der Versuchsgruppen GSM ($n = 23$), UMTS ($n = 26$) und SHAM ($n = 17$) in ng/ml in der Generation F0a

2.3.3 Generation F0b

In die Untersuchungen zur Basalkonzentration der Generation F0b wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 27 Tiere GSM-, 24 Tiere UMTS- und 33 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung der Effekte der Variablen Expositionsart und Gruppe auf die Basalkonzentration ergibt einen signifikanten Einfluss der Exposition ($p = 0,008$). Die Basalkonzentrationen sowohl der GSM- als auch der UMTS-exponierten Tiere

liegen signifikant niedriger als die Basalkonzentrationen der SHAM-Tiere. Die erwartete Basalkonzentration der GSM-exponierten Tiere liegt um 101,93 ng/ml, die der UMTS-exponierten Tiere um 124,3 ng/ml niedriger als die der SHAM-exponierten Tiere. Ein signifikanter Einfluss der Gruppe auf die Basalkonzentration ist in dieser Generation nicht nachzuweisen ($p = 0,184$) (Tab. 32, Tab. 33, Abb. 28).

Tab. 32: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0b)

	Effekt	p-Wert
Generation F0b	Exposition	0,008
	Gruppe	0,184

Tab. 33: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F0b	Exposition	GSM	-101,930	0,015
		UMTS	-124,308	0,005
		SHAM	0	

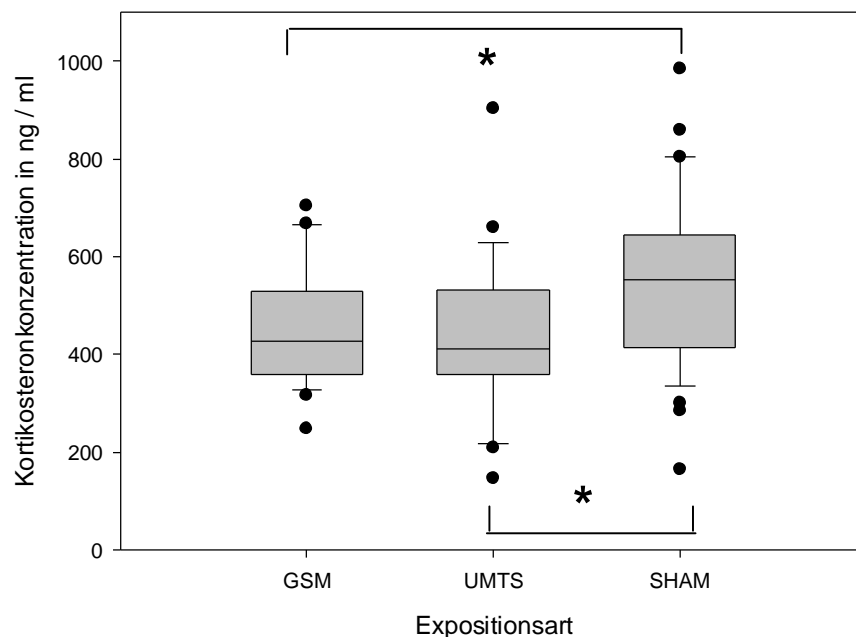


Abb. 28: Vergleich der Basalkonzentrationen der Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33) in ng/ml in der Generation F0b (Einfluss der Exposition: $p = 0,008$)

2.3.4 Generation F2

In die Untersuchungen zur Basalkonzentration der Generation F2 wurden 124 Tiere einbezogen. Davon waren 41 Tiere GSM-, 42 Tiere UMTS- und 41 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung der Basalkonzentration der Generation F2 kann keinen signifikanten Einfluss der Exposition ($p = 0,672$) auf die untersuchte Variable „Basalkonzentration“ nachweisen. In der Generation F2 konnte allerdings ein signifikanter Einfluss der Gruppe ($p = 0,000$) auf die Variable „Basalkonzentration“ nachgewiesen werden. Die Basalkonzentrationen der Tiere der Gruppe 1 liegen signifikant niedriger als die Basalkonzentrationen der Gruppe 2. Die erwartete Basalkonzentration der Gruppe 1 liegt um 124,6 ng/ml niedriger als die Basalkonzentration der Gruppe 2 (Tab. 34, Tab. 35, Abb. 29).

Tab. 34: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F2)

	Effekt	p-Wert
Generation F0b	Exposition	0,672
	Gruppe	0,000

Tab. 35: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F0b	Exposition	GSM	21,437	0,578
		UMTS	33,780	0,379
		SHAM	0	.
	Gruppe	1	-124,572	0,000
		2	0	.

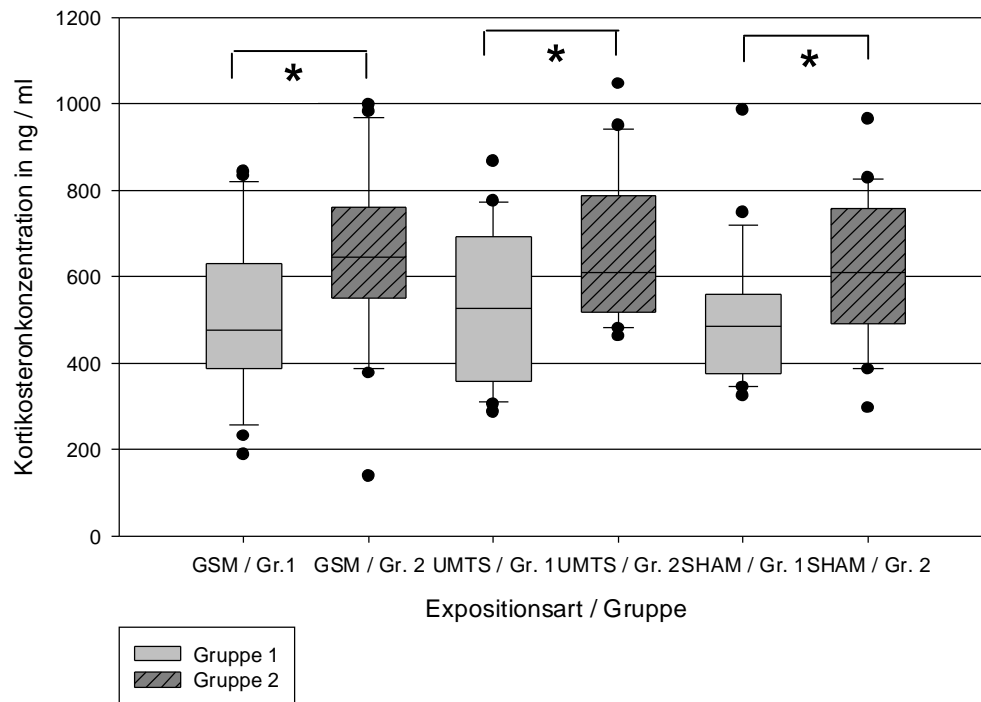


Abb. 29: Vergleich der Basalkonzentrationen gegliedert nach Expositionsart und Gruppe in der Generation F2 (n = 124; 41 GSM-, 42 UMTS- und 41 SHAM-Tiere) (Einfluss der Gruppe: p = 0,000)

2.3.5 Vergleich der Generationen

Die unterschiedlichen Basalkonzentrationen in den einzelnen Generationen einer Expositionsart wurden deskriptiv ausgewertet. Eine Übersicht über die Mittelwerte, Minima, Maxima und Standardabweichungen der Basalwerte der unterschiedlichen Generationen unter den unterschiedlichen Expositionsbedingungen ist Tab. 36 zu entnehmen. Die graphische Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen findet sich je nach Expositionsart in Abb. 30, 31 und 32.

Tab. 36: Deskriptive Statistik der expositionsart- und generationenbezogenen Basalkonzentration in ng/ml

	Mittelwert	Minimum	Maximum	Standardabweichung
GSM/F0a	430,2	204,6	619,2	115,8
GSM/F0b	457,7	247,5	704,4	118,3
GSM/F2	581,3	138,8	998,	196,9
UMTS/F0a	487,2	212,5	715,1	136,8
UMTS/F0b	434,6	146,7	903,3	164,2
UMTS/F2	595,2	286,5	1046,4	186,3
SHAM/F0a	493,4	154,0	685,8	139,0
SHAM/F0b	554,9	165,5	985,0	182,2
SHAM/F2	559,9	296,1	985,9	168,9

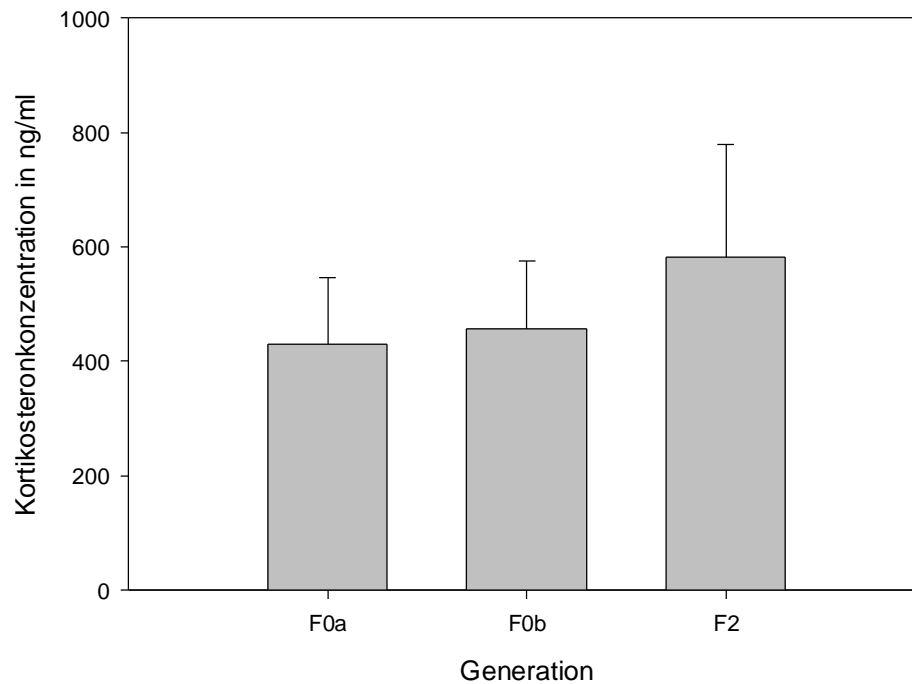


Abb. 30: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Basalkonzentrationen in ng/ml der Generationen F0a (n = 23), F0b (n = 27) und F2 (n = 42) unter GSM-Exposition

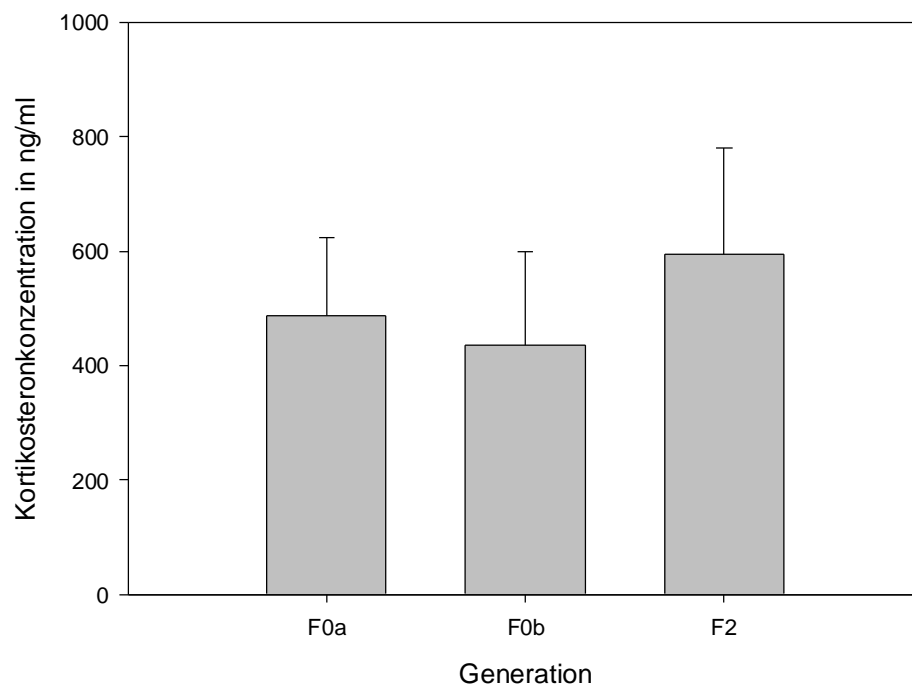


Abb. 31: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Basalkonzentrationen in ng/ml der Generationen F0a (n = 26), F0b (n = 24) und F2 (n = 42) unter UMTS-Exposition

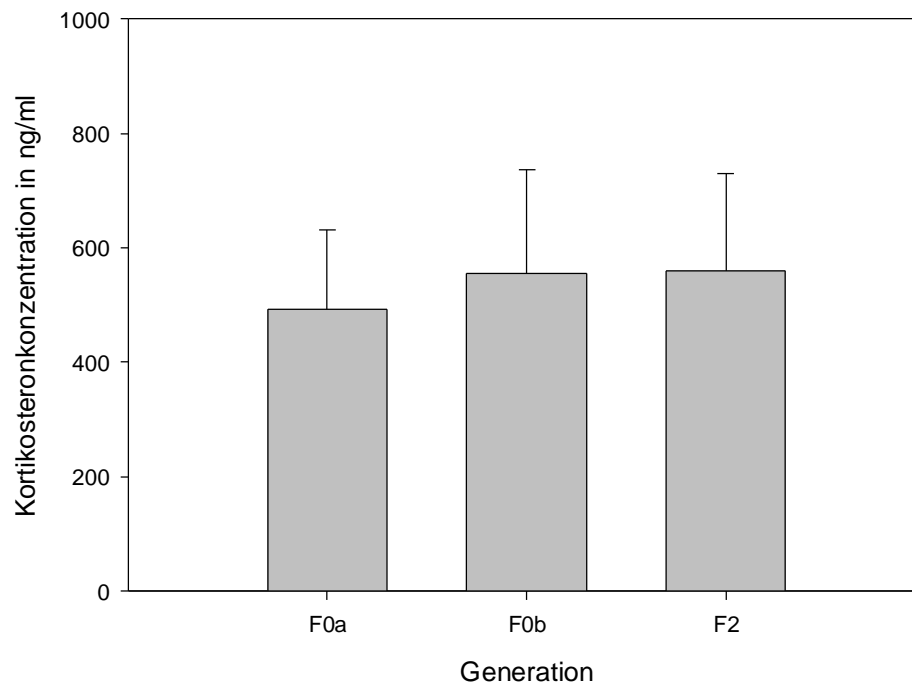


Abb. 32: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Basalkonzentrationen in ng/ml der Generationen F0a (n = 35), F0b (n = 33) und F2 (n = 42) unter SHAM-Exposition

2.4 Blutentnahmedauer

2.4.1 Allgemeines

Statistisch analysiert wurde ein potentieller Einfluss der Blutentnahmedauer auf die Basalkonzentration der einzelnen Generationen. Diese Untersuchung wurde durchgeführt, um die Blutentnahmedauer als potentiellen exogenen Stressor auszuschließen. Die Blutentnahmedauer zu den übrigen Blutentnahmezeitpunkten wurde mittels deskriptiver Statistik ausgewertet.

2.4.2 Generation F0a

In die Untersuchungen zur Blutentnahmedauer in der Generation F0a wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 23 Tiere GSM-, 26 Tiere UMTS- und 35 Tiere SHAM-exponiert.

Unter Berücksichtigung der Blutentnahmedauer kann in der Generation F0a statistisch kein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,194$) oder der

Blutentnahmedauer ($p = 0,372$) auf die Basalkonzentration nachgewiesen werden (Tab. 37, Abb. 33).

Tab. 37: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0a)

	Effekt	p-Wert
Generation F0a	Exposition	0,194
	Gruppe	0,361
	Blutentnahmedauer	0,372

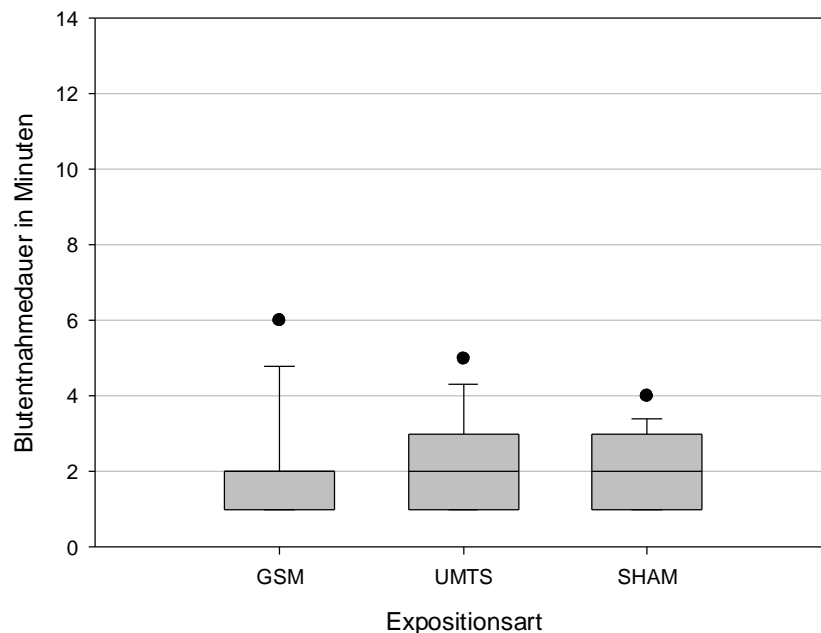


Abb. 33: Darstellung der Blutentnahmedauer in Minuten in der Generation F0a zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen GSM ($n = 23$), UMTS ($n = 26$) und SHAM ($n = 35$)

2.4.3 Generation F0b

In die Untersuchungen zur Blutentnahmedauer der Generation F0b wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 27 Tiere GSM-, 24 Tiere UMTS- und 33 Tiere SHAM-exponiert.

Unter Berücksichtigung der Blutentnahmedauer kann statistisch ein signifikanter Einfluss der Expositionsart ($p = 0,017$) nachgewiesen werden. Der Basalwert der GSM-exponierten Tiere liegt um 89,5 ng/ml, der der UMTS-exponierten um 117,5 ng/ml unter dem Basalwert der SHAM-exponierten Tiere. In der Generation F0b kann

kein signifikanter Einfluss der Blutentnahmedauer auf die Basalkonzentration festgestellt werden ($p = 0,155$) (Tab. 38, Tab. 39, Abb. 34).

Tab. 38: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F0b)

	Effekt	p-Wert
Generation F0b	Exposition	0,017
	Gruppe	0,099
	Blutentnahmedauer	0,155

Tab. 39: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F0b	Exposition	GSM	-89,148	0,036
		UMTS	-117,460	0,007
		SHAM	0	.

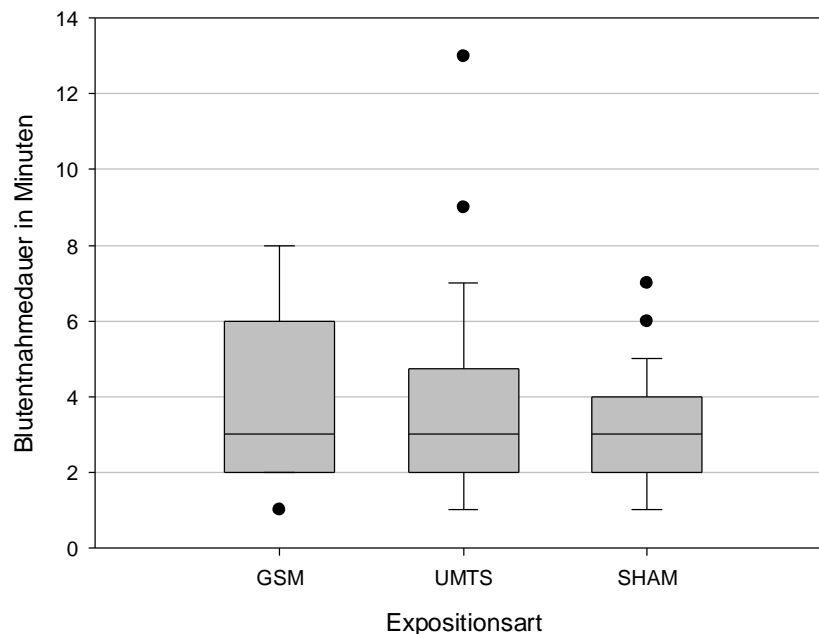


Abb. 34: Darstellung der Blutentnahmedauer in Minuten in der Generation F0a zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen GSM GR (n = 27), UMTS (n = 24), und SHAM (n = 33) in ng/ml in der Generation F0b

2.4.4 Generation F2

In die Untersuchungen zur Blutentnahmedauer der Generation F2 wurden 124 Tiere einbezogen. Davon waren 41 Tiere GSM-, 42 Tiere UMTS- und 41 Tiere SHAM-exponiert.

In der Generation F2 kann kein Einfluss der Exposition ($p = 0,637$) oder der Blutentnahmedauer ($p = 0,435$) auf die untersuchte Variable „Basalkonzentration“ nachgewiesen werden. Es kann allerdings in der Generation F2 ein signifikanter Einfluss der Gruppe ($p = 0,000$) auf die Variable „Basalkonzentration“ nachgewiesen werden. Die erwarteten Basalkonzentrationen der Tiere der Gruppe 1 liegen mit 121,0 ng/ml signifikant niedriger als die Basalkonzentrationen der Gruppe 2 (Tab. 40, Tab. 41, Abb. 35).

Tab. 40: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf die Basalkonzentration (F2)

	Effekt	p-Wert
Generation F2	Exposition	0,637
	Gruppe	0,000
	Blutentnahmedauer	0,435

Tab. 41: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F2	Exposition	GSM	-28,969	0,467
		UMTS	34,031	0,376
		SHAM	0	.
	Gruppe	1	-121,036	0,000
		2	0	
	Blutentnahmedauer	Δt_0	-9,962	0,435

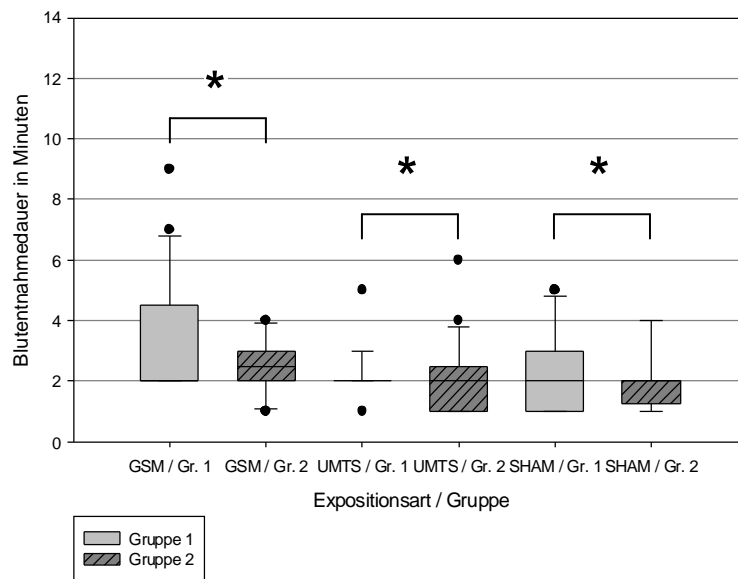


Abb. 35: Darstellung der Blutentnahmedauer in Minuten in der Generation F0a zum Zeitpunkt t0 der Versuchsgruppen GSM GR. 1 (n = 21), GSM GR. 2 (n = 21), UMTS GR.1 (n = 21), UMTS GR. 2 (n = 21), SHAM GR. 1 (n = 21) und SHAM GR. 2 (n = 21) in ng/ml in der Generation F2 (Einfluss der Gruppe: p = 0,000)

2.4.5 Weitere Blutentnahmezeitpunkte und Vergleich der Generationen

Die Tabellen 42, 44 und 44 bieten eine Übersicht über die Mittelwerte, Standardabweichungen und Maxima der Blutentnahmedauer je nach Expositionsart und Generation. Die graphische Darstellung der Blutentnahmedauer zu den Blutentnahmezeitpunkten t0, t15, t30, t45, t60, t90 und t120 in den Generationen F0a, F0b und F2 und die Gegenüberstellung der unterschiedlichen Expositionsarten innerhalb einer Generation ist den Abb. 36, 37, 38, 39, 40 und 41.

Tab. 42: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Blutentnahmedauer in Minuten der GSM-exponierten Tiere

		t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120
GSM/F0a	Mittelwert	2,1	2,8	2,6	3,3	4,2	4,0	4,6
	Standardabweichung	1,4	1,3	0,8	1,8	2,7	2,7	3,0
	Maximum	6,0	6,0	5,0	8,0	11,0	13,0	13,0
GSM/F0b	Mittelwert	4,0	5,0	4,4	4,3	3,9	3,8	5,1
	Standardabweichung	2,2	2,3	1,8	2,9	2,1	1,6	2,6
	Maximum	8,0	10,0	8,0	15,0	9,0	8,0	11,0
GSM/F2	Mittelwert	2,9	3,2	3,4	3,8	4,1	4,4	5,2

		t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120
	Standardabweichung	1,6	1,7	1,8	2,3	1,9	2,5	4,0
	Maximum	9,0	11,0	10,0	11,0	10,0	15,0	23,0

Tab. 43: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen Blutentnahmedauer in Minuten der UMTS-exponierten Tiere

		t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120
UMTS/F0a	Mittelwert	2,3	2,6	3,2	3,0	2,6	2,8	3,5
	Standardabweichung	1,2	1,4	1,9	2,0	1,4	1,2	1,9
	Maximum	5,0	6,0	9,0	8,0	8,0	6,0	8,0
UMTS/F0b	Mittelwert	3,5	4,9	5,3	4,8	5,1	4,1	4,8
	Standardabweichung	2,7	3,1	3,9	2,4	3,4	1,9	2,2
	Maximum	13,0	12,0	18,0	10,0	13,0	8,0	11,0
UMTS/F2	Mittelwert	2,1	2,5	3,5	3,7	4,3	4,6	5,5
	Standardabweichung	1,0	1,1	2,1	2,1	2,3	2,4	3,6
	Maximum	6,0	5,0	11,0	11,0	14,0	13,0	16,0

Tab. 44: Deskriptive Statistik der generationenbezogenen Blutentnahmedauer in Minuten der SHAM-exponierten Tiere

		t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120
SHAM/F0a	Mittelwert	2,5	2,5	3,4	3,4	2,9	3,5	2,5
	Standardabweichung	1,2	1,2	2,0	2,0	1,5	2,4	1,2
	Maximum	5,0	6,0	8,0	9,0	7,0	13,0	5,0
SHAM/F0b	Mittelwert	2,8	3,7	4,2	4,8	6,0	5,3	5,6
	Standardabweichung	1,5	1,9	2,3	2,3	3,3	2,7	4,0
	Maximum	7,0	8,0	9,0	11,0	20,0	13,0	20,0
SHAM/F2	Mittelwert	2,1	3,2	2,8	3,2	4,3	4,1	4,1
	Standardabweichung	1,1	3,3	1,3	1,5	2,3	2,6	2,1
	Maximum	5,0	22,0	6,0	8,0	12,0	12,0	9,0

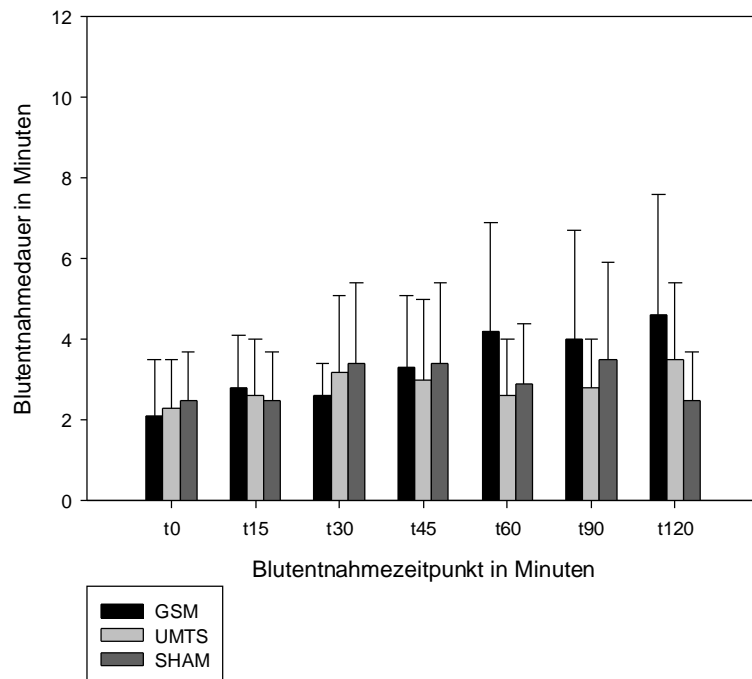


Abb. 36: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten in Generation F0a unter den unterschiedlichen Expositionsarten GSM (n = 23), UMTS (n = 26) und SHAM (n = 35)

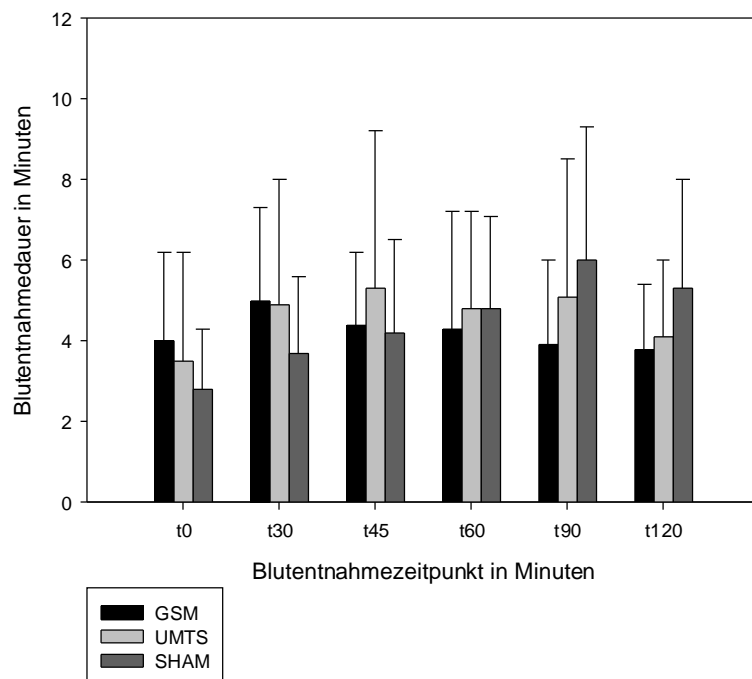


Abb. 37: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten in Generation F0b unter den unterschiedlichen Expositionsarten GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33)

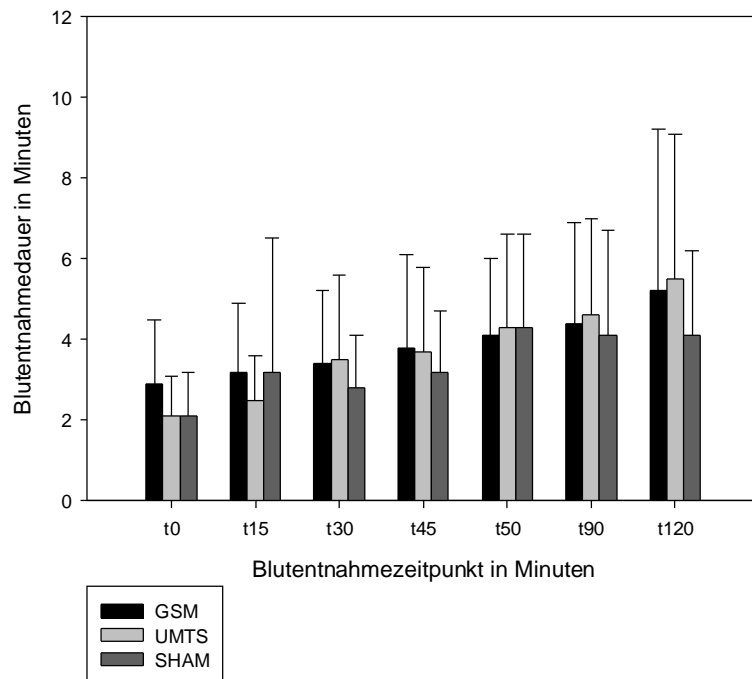


Abb. 38: Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten in Generation F2 unter den unterschiedlichen Expositionsarten und GSM (n = 41), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41)

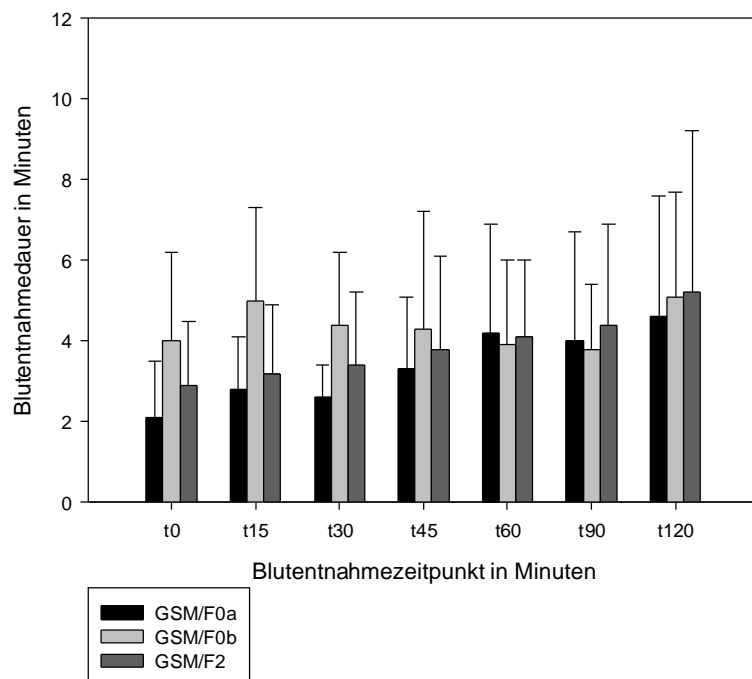


Abb. 39: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten bei den GSM-exponierten Tieren in den unterschiedlichen Generationen F0a (n = 23), F0b (n = 24) und F2 (n = 41)

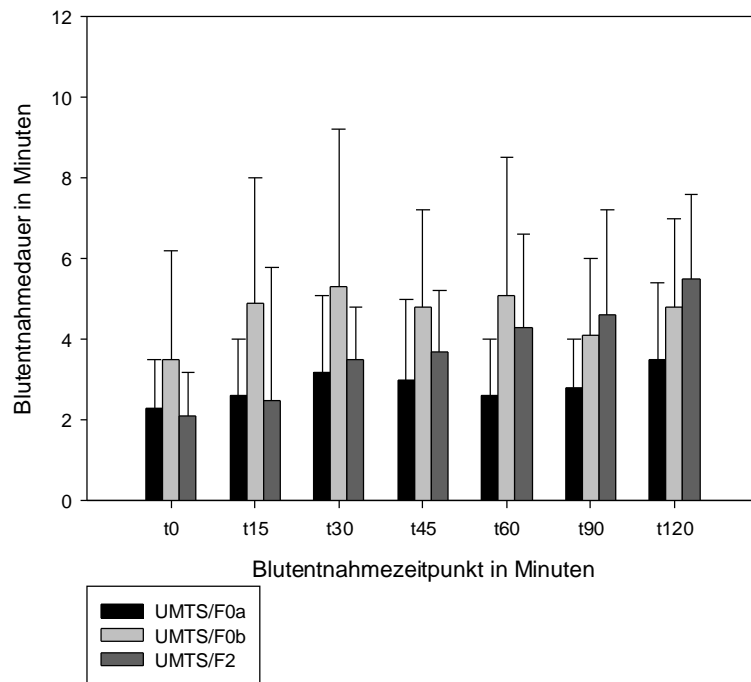


Abb. 40: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten bei den UMTS-exponierten Tieren in den unterschiedlichen Generationen F0a (n = 26), F0b (n = 24) und F2 (n = 42)

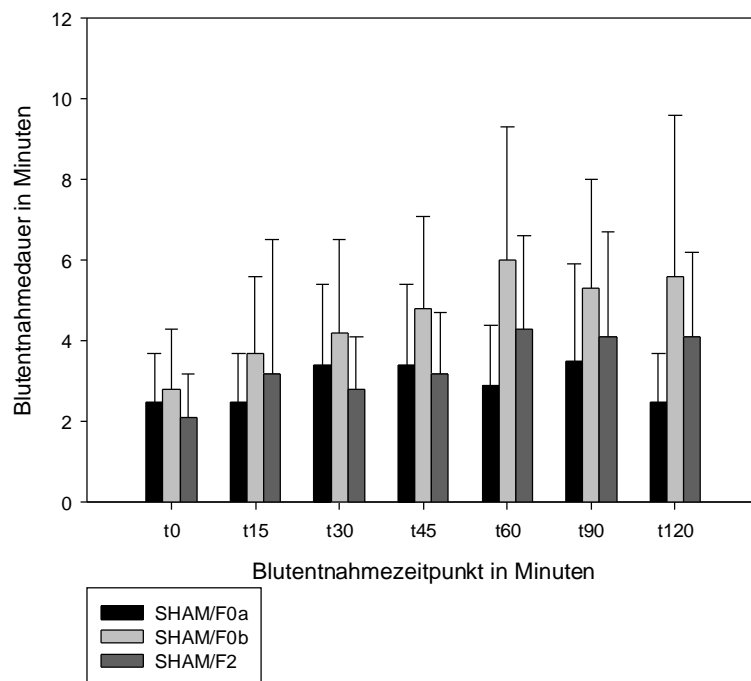


Abb. 41: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen der Blutentnahmedauer in Minuten bei den SHAM-exponierten Tieren in den unterschiedlichen Generationen F0a (n = 35), F0b (n = 33) und F2 (n = 41)

2.5 Analyse der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert

2.5.1 Allgemeines

Statistisch ausgewertet wurde der Wert der Differenz der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 (Diff_Cort_Max_Basal). Die Durchführung dieser Analyse erfolgte, um den Anstieg der Kortikosteronkonzentration nach ACTH-Applikation besser beurteilen zu können.

2.5.2 Generation F0a

In die Untersuchungen von Diff_Cort_Max_Basal der Generation F0a wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 23 Tiere GSM-, 26 Tiere UMTS- und 35 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung des Effektes der Exposition auf Diff_Cort_Max_Basal ergibt keinen signifikanten Einfluss der Expositionsart ($p = 0,226$). Es besteht in der Generation F0a allerdings ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,031$). Der erwartete absolute Wert von Diff_Cort_Max_Basal war bei den Tieren der Gruppe 1 um 69,0 ng/ml höher als bei Gruppe 2 (Tab. 45, Tab. 46): Die graphischen Darstellungen sind in Abb. 42, 43, 44 und 45 zu finden.

Tab. 45: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf Diff_Cort_Max_Basal

	Effekt	p-Wert
Generation F0a	Exposition	0,226
	Gruppe	0,031

Tab. 46: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F0a	Exposition	GSM	34,416	0,373
		UMTS	-36,584	0,325
		SHAM	0	.
	Gruppe	1	68,992	0,031
		2	0	

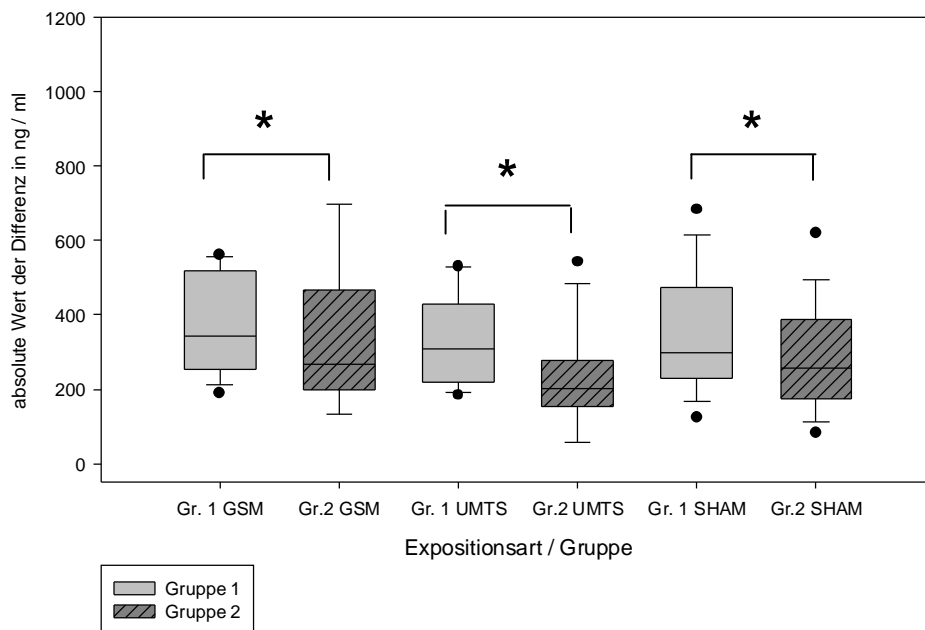


Abb. 42: Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert in ng/ml in der Generation F0a bei den Versuchsgruppen GSM GR. 1 (n = 14), GSM GR. 2 (n = 9), UMTS GR.1 (n = 14), UMTS GR. 2 (n = 12), SHAM GR. 1 (n = 18) und SHAM GR. 2 (n = 17) (Einfluss der Gruppe: p = 0,031)

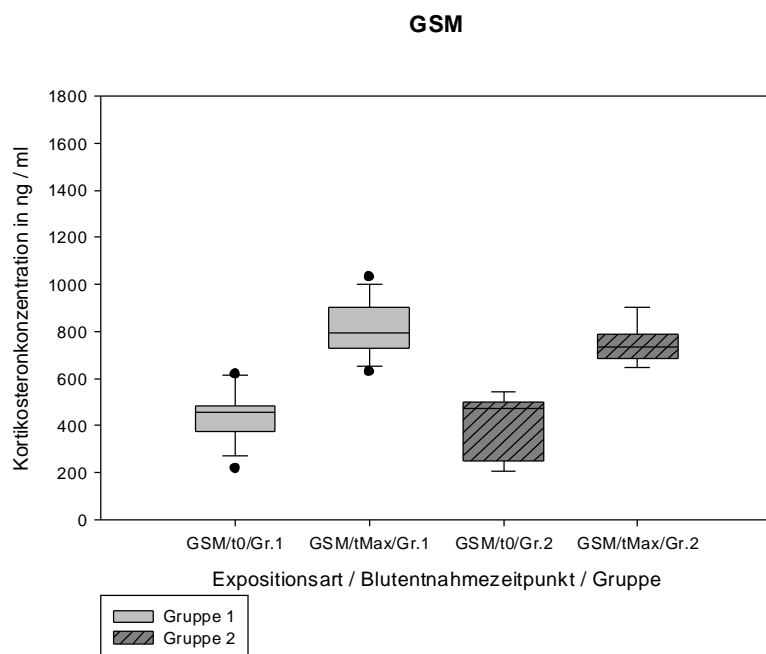


Abb. 43: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter GSM-Exposition der Gruppen GSM GR. 1 (n = 14) und GSM GR. 2 (n = 9)

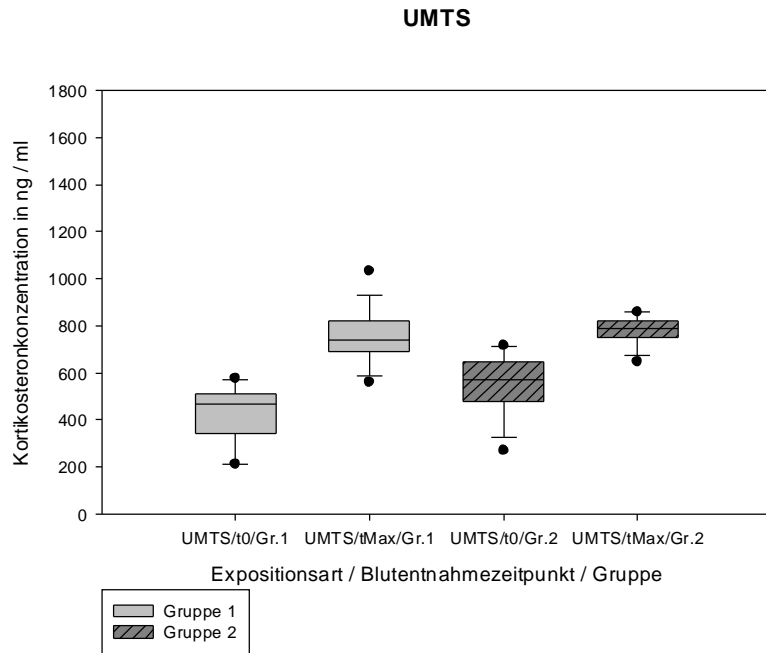


Abb. 44: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter UMTS-Exposition der Gruppen UMTS GR. 1 (n = 14) und UMTS GR. 2 (n = 12)

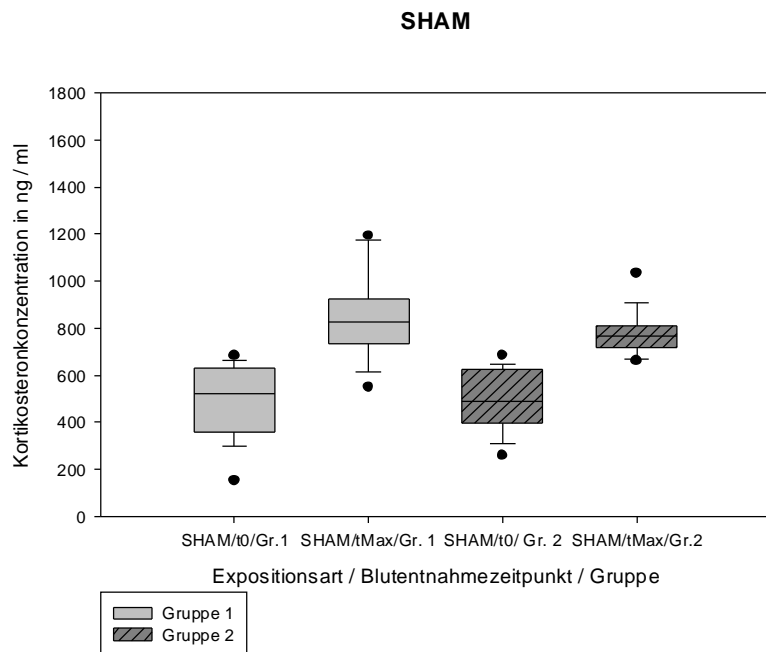


Abb. 45: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter SHAM-Exposition der Gruppen SHAM GR. 1 (n = 18) und SHAM GR. 2 (n = 17)

2.5.3 Generation F0b

In die Untersuchungen von Diff_Cort_Max_Basal der Generation F0b wurden 84 Tiere einbezogen. Davon waren 27 Tiere GSM-, 24 Tiere UMTS- und 33 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung des Effektes der Exposition auf Diff_Cort_Max_Basal ergibt einen signifikanten Einfluss der Expositionsart ($p = 0,012$). Auch in der Generation F0b ist ein signifikanter Einfluss der Gruppe ($p = 0,026$) feststellbar. Der erwartete Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist bei den GSM-exponierten Tieren um 100,4 ng/ml höher als bei den SHAM-exponierten Tieren. Der erwartete Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist bei der Gruppe 1 um 67,8 ng/ml höher als bei Gruppe 2 (Tab. 47, Tab. 48). Die graphischen Darstellungen sind in Abb. 46, 47, 48 und 49 zu finden.

Tab. 47: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf Diff_Cort_Max_Basal

	Effekt	p-Wert
Generation F0b	Exposition	0,012
	Gruppe	0,026

Tab. 48: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F0b	Exposition	GSM	100,492	0,006
		UMTS	5,792	0,877
		SHAM	0	.
	Gruppe	1	67,859	0,026
		2	0	

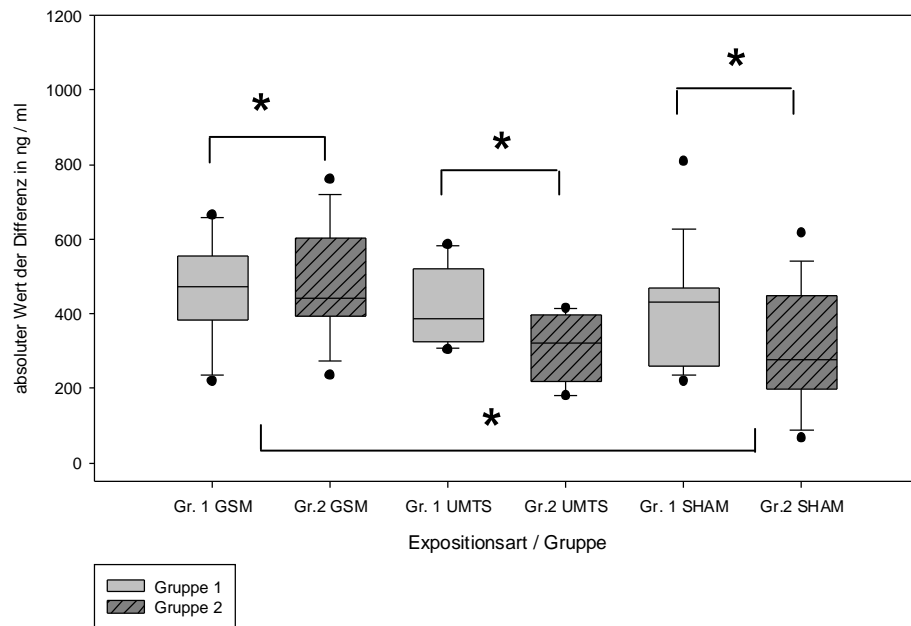


Abb. 46: Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert in ng/ml in der Generation F0b bei den Versuchsgruppen GSM GR. 1 (n = 15), GSM GR. 2 (n = 12), UMTS GR.1 (n = 13), UMTS GR. 2 (n = 11), SHAM GR. 1 (n = 15) und SHAM GR. 2 (n = 18) (Einfluss der Expositionsart: p = 0,012, Einfluss der Gruppe: p = 0,026)

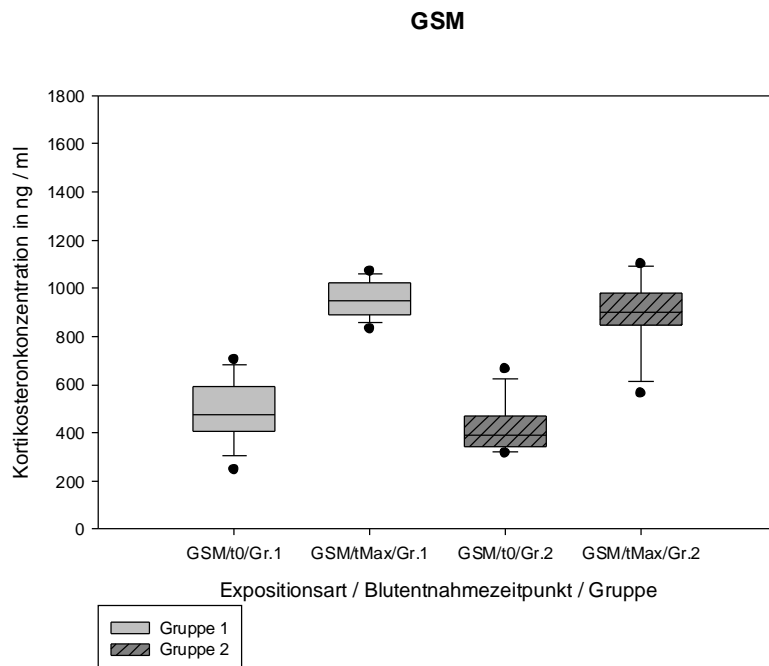


Abb. 47: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter GSM-Exposition der Gruppen GSM GR. 1 (n = 15) und GSM GR. 2 (n = 12)

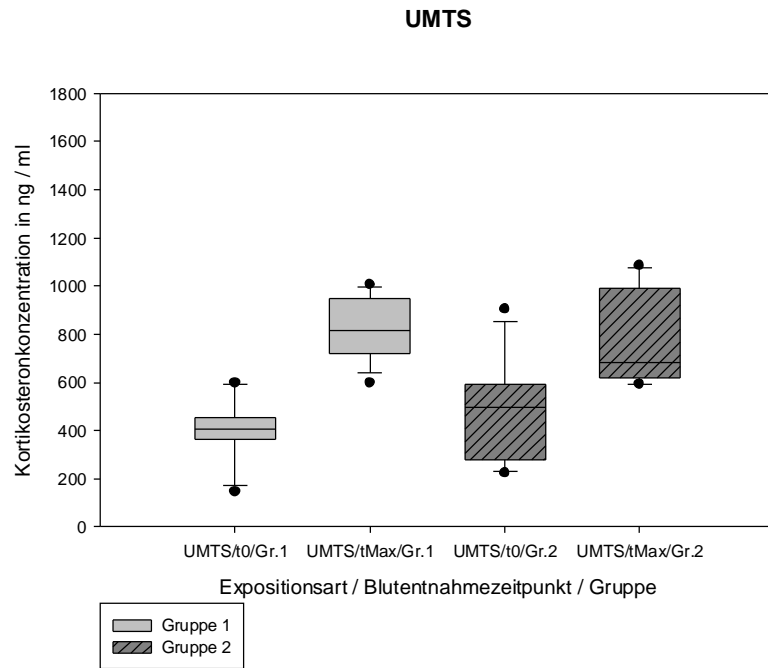


Abb. 48: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter UMTS-Exposition der Gruppen UMTS GR. 1 (n = 13) und UMTS GR. 2 (n = 11)

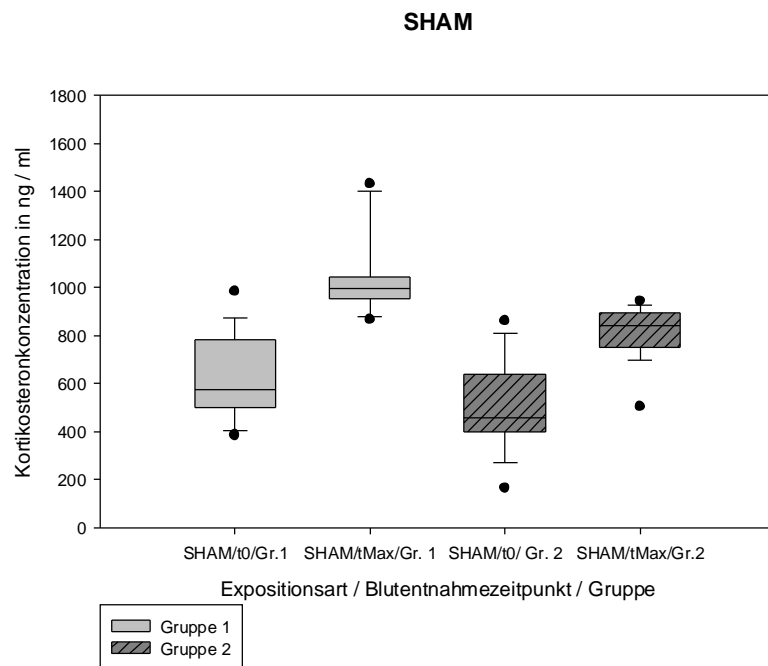


Abb. 49: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter SHAM-Exposition der Gruppen SHAM GR. 1 (n = 15) und SHAM GR. 2 (n = 18)

2.5.4 Generation F2

In die Untersuchungen von Diff_Cort_Max_Basal der Generation F2 wurden 124 Tiere einbezogen. Davon waren 41 Tiere GSM-, 42 Tiere UMTS- und 41 Tiere SHAM-exponiert.

Die statistische Auswertung des Effektes von Exposition und Gruppe auf Diff_Cort_Max_Basal ergibt einen signifikanten Einfluss der Gruppe ($p = 0,044$). Der erwartete Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist bei den Tieren der Gruppe 1 um 83,3 ng/ml niedriger als bei den Tieren der Gruppe 2. Ein signifikanter Einfluss der Expositionsart ($p = 0,410$) ist statistisch nicht nachweisbar (Tab. 49, Tab. 50). Die graphischen Darstellungen sind in Abb. 50, 51, 52 und 53 zu finden.

Tab. 49: Ergebnis der F-Tests der festen Effekte auf Diff_Cort_Max_Basal

	Effekt	p-Wert
Generation F2	Exposition	0,410
	Gruppe	0,044

Tab. 50: Ergebnisse ausgewählter Parameterschätzer und zugehörige t-Tests

	Effekt	Ausprägung	Parameterschätzer	p-Wert
Generation F2	Exposition	GSM	-66,007	0,192
		UMTS	-44,844	0,372
		SHAM	0	.
	Gruppe	1	-83,324	0,044
		2	0	

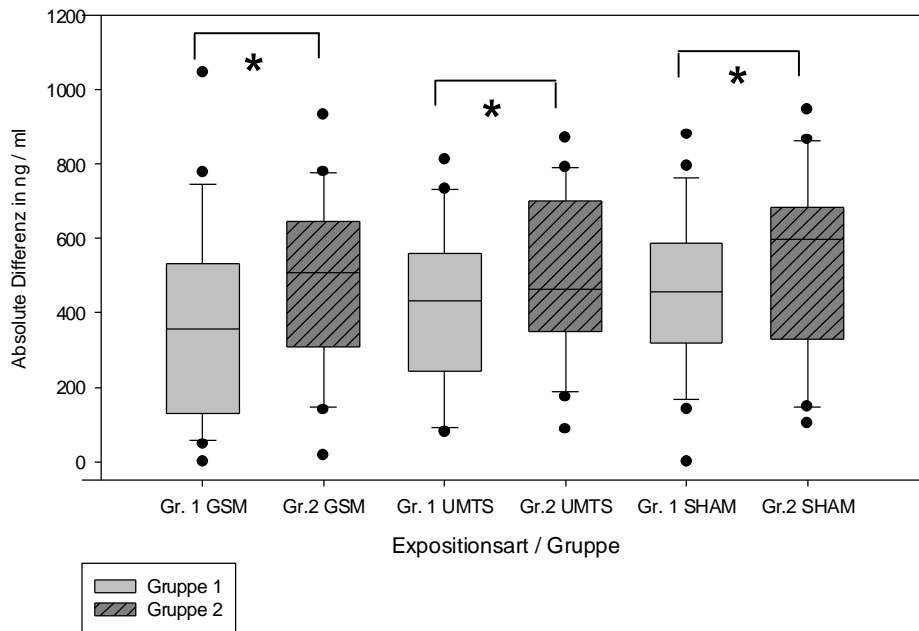


Abb. 50: Vergleich der absoluten Werte der Differenz der Kortikosteronkonzentrationen zwischen Maximal- und Basalwert in ng/ml in der Generation F2 bei den Versuchsgruppen GSM GR. 1 (n = 21), GSM GR. 2 (n = 21), UMTS GR.1 (n = 21), UMTS GR. 2 (n = 21), SHAM GR. 1 (n = 21) und SHAM GR. 2 (n = 21) (Einfluss der Gruppe: p = 0,044)

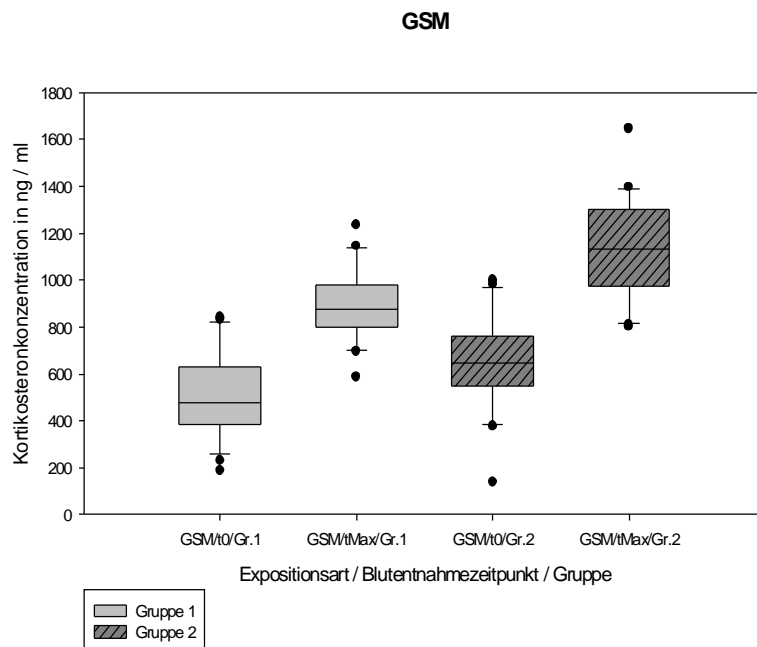


Abb. 51: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter GSM-Exposition der Gruppen GSM GR. 1 (n = 21) und GSM GR. 2 (n = 21)

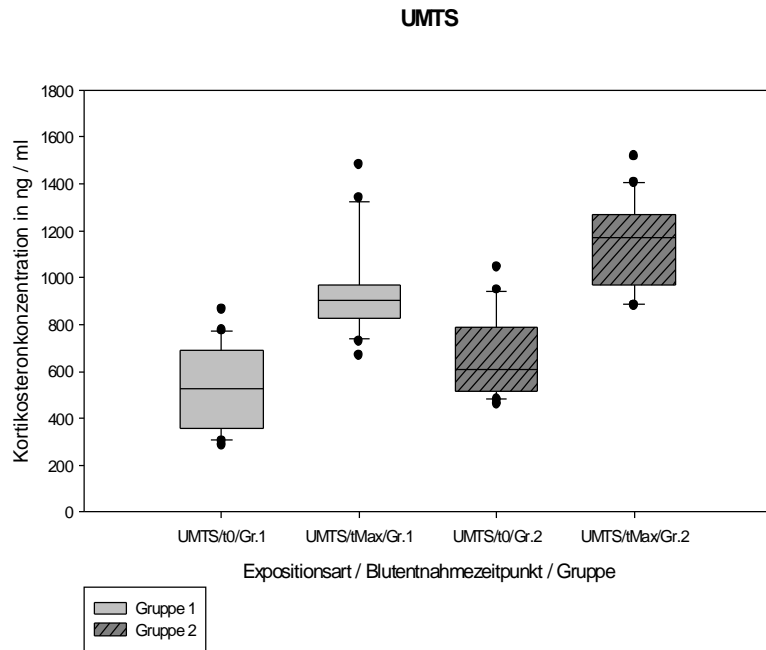


Abb. 52: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter UMTS-Exposition der Gruppen UMTS GR. 1 (n = 21) und UMTS GR. 2 (n = 21)

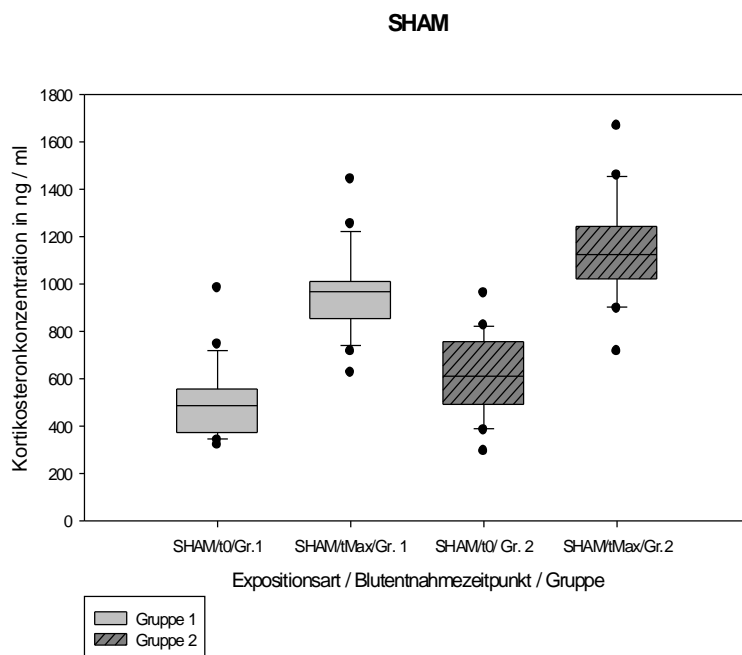


Abb. 53: Vergleich der Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt t0 und zum Zeitpunkt tMax unter SHAM-Exposition der Gruppen SHAM GR. 1 (n = 21) und SHAM GR. 2 (n = 21)

2.5.5 Vergleich der Generationen

Eine Übersicht über die Mittelwerte, Minima, Maxima und Standardabweichungen der Diff_Cort_Max_Basal und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax gegliedert nach Generationen und Gruppen unter den unterschiedlichen Expositionsbedingungen ist Tab. 51, 52, 53, 54, 55 und 56 zu entnehmen. Die graphischen Gegenüberstellung gegliedert nach Generation und Expositionsart findet sich in den Abb. 54.

Tab. 51: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen absoluten Größe der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und zum Zeitpunkt t0 der GSM-exponierten Tiere in ng/ml

Diff_Cort_Max_Basal	GSM F0a/Gr.1	GSM F0a/Gr.2	GSM F0b/Gr.1	GSM F0b/Gr.2	GSM F2/Gr.1	GSM F2/Gr.2
Mittelwert	369,7	337,1	459,6	478,7	371,0	483,8
Standardabweichung	133,0	178,6	139,8	140,7	258,4	52,9
Minimum	189,3	133,8	219,7	234,5	0,0	18,2
Maximum	561,3	698,2	664,0	760,4	1047,8	934,6

Tab. 52: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen absoluten Größe der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und zum Zeitpunkt t0 der UMTS-exponierten Tiere in ng/ml

Diff_Cort_Max_Basal	UMTS F0a/Gr.1	UMTS F0a/Gr. 2	UMTS F0b/Gr. 1	UMTS F0b/Gr. 2	UMTS F2/Gr. 1	UMTS F2/Gr. 2
Mittelwert	328,6	225,8	426,7	308,0	416,0	480,3
Standardabweichung	120,6	131,0	103,3	91,9	211,9	214,2
Minimum	184,6	59,0	302,9	180,0	78,5	87,9
Maximum	529,8	543,0	584,9	415,1	812,2	871,2

Tab. 53: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen absoluten Größe der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und zum Zeitpunkt t0 der SHAM-exponierten Tiere in ng/ml

Diff_Cort_Max_Basal	SHAM F0a/Gr. 1	SHAM F0a/Gr. 2	SHAM F0b/Gr. 1	SHAM F0b/Gr. 2	SHAM F2/Gr. 1	SHAM F2/Gr. 2
Mittelwert	348,5	281,7	416,2	314,5	456,2	529,5
Standardabweichung	157,6	142,6	144,7	157,8	204,2	247,7
Minimum	125,2	83,0	218,8	66,0	0,0	104,4
Maximum	683,5	620,3	808,3	616,3	880,7	946,4

Tab. 54: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt tMax der GSM-exponierten Tiere

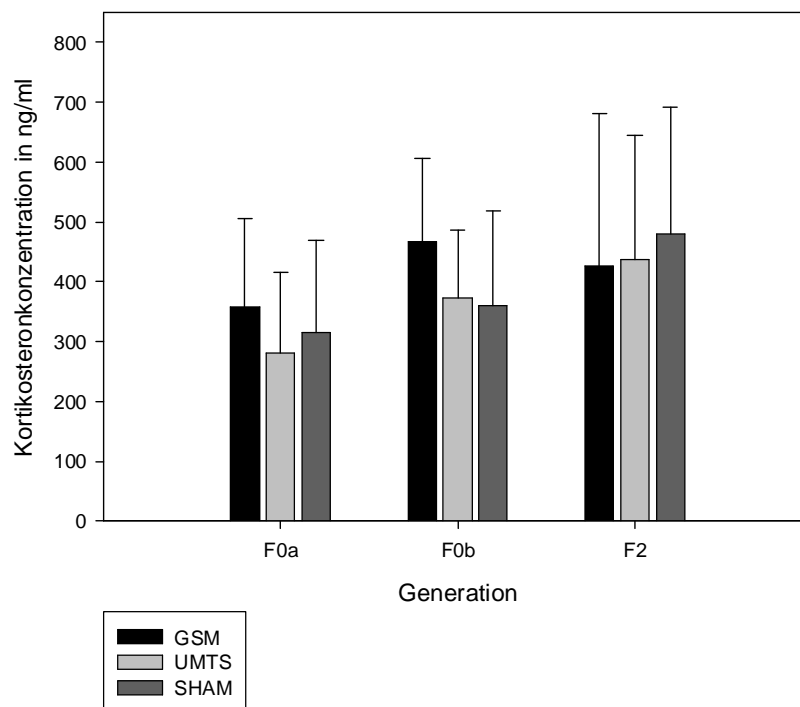
Konzentration zum Zeitpunkt tMax	GSM F0a/Gr. 1	GSM F0a/Gr. 2	GSM F0b/Gr. 1	GSM F0b/Gr. 2	GSM F2/Gr. 1	GSM F2/Gr. 2
Mittelwert	815,8	742,6	950,3	894,9	889,0	1131,4
Standard- abweichung	116,3	80,1	70,0	144,9	158,3	215,0
Minimum	628,1	648,9	831,2	564,6	587,6	804,0
Maximum	1032,6	902,8	1070,7	1099,6	1235,8	1647,80

Tab. 55: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt tMax der UMTS-exponierten Tiere

Konzentration zum Zeitpunkt tMax	UMTS F0a/Gr. 1	UMTS F0a/Gr. 2	UMTS F0b/Gr. 1	UMTS F0b/Gr. 2	UMTS F2/Gr. 1	UMTS F2/Gr. 2
Mittelwert	754,5	784,5	825,5	785,1	946,3	1140,4
Standard- abweichung	114,3	57,8	134,7	188,0	197,8	195,8
Minimum	562,2	648,4	597,4	593,3	670,9	883,1
Maximum	1032,9	858,3	1005,5	1083,3	1483,3	1518,6

Tab. 56: Deskriptive Statistik der generationen- und gruppenbezogenen Kortikosteronkonzentration in ng/ml zum Zeitpunkt tMax der SHAM-exponierten Tiere

Konzentration zum Zeitpunkt tMax	SHAM F0a/Gr. 1	SHAM F0a/Gr. 2	SHAM F0b/Gr. 1	SHAM F0b/Gr. 2	SHAM F2/Gr. 1	SHAM F2/Gr. 2
Mittelwert	841,6	775,6	1033,6	817,3	960,4	1147,9
Standard- abweichung	163,2	88,9	161,5	105,5	171,4	214,1
Minimum	550,7	661,2	865,8	504,2	628,1	719,1
Maximum	1193,2	1035,5	1430,8	944,5	1445,5	1670,3

**Abb. 54:** Gegenüberstellung der Mittelwerte und Standardabweichungen von Diff_Cort_Max_Basal in ng/ml gegliedert nach Generation und Expositionsart der Versuchsgruppen F0a/GSM (n = 23), F0a/UMTS (n = 26), F0a/SHAM (n = 35), F0b/GSM (n = 27), F0b/UMTS (n = 24), F0b/SHAM (n = 33), F2/GSM (n = 41) und F2/UMTS (n = 42) und F2/SHAM (n = 41)

2.6 Deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration

2.6.1 Generation F0a

Es wurde eine deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration durchgeführt. In der Generation F0a wurde die Maximalkonzentration von Null Tieren

zum Zeitpunkt t0, von einem Tier zum Zeitpunkt t15, von vier Tieren zum Zeitpunkt t30, von acht Tieren zum Zeitpunkt t45, von 18 Tieren zum Zeitpunkt t60, von 22 Tieren zum Zeitpunkt t90 und von 31 Tieren zum Zeitpunkt t120 erreicht.

Der Median der Zeitpunkte der Maximalkonzentration liegt bei den GSM-exponierten Tieren in der Generation F0a bei 120 Minuten. Bei den UMTS-exponierten Tieren liegt der Median bei 90 Minuten. Bei den SHAM-exponierten Tieren liegt der Median bei 60 Minuten.

Die deskriptive Statistik über die Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in den unterschiedlichen Generationen ist Tab. 57 zu entnehmen, die Auflistung über die absolute Anzahl der Tiere je Generation und Exposition mit der Maximalkonzentration zum jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt findet sich in Tab. 58. Die entsprechenden graphischen Darstellungen sind Abb. 55 und 56 zu entnehmen.

Tab. 57: Deskriptive Statistik über die Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in den unterschiedlichen Generationen

		t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120	Gesamt
F0a	Anzahl pro Generation	0	1	4	8	18	22	31	84
	% von F0a	0%	1,2%	4,8%	9,5%	21,4%	26,2%	36,9%	100%
F0b	Anzahl pro Generation	0	5	5	12	16	23	23	84
	% von F0b	0%	6,0%	6,0%	14,3%	19,0%	27,4%	27,4%	100
F2	Anzahl pro Generation	2	2	10	7	20	36	47	124
	% von F2	1,6%	1,6%	8,1%	5,6%	16,1%	29,0%	37,9%	100
Gesamt	Anzahl	2	8	19	27	54	81	101	292
	% aller Generationen	0,7%	2,7%	6,5%	9,2%	18,5%	27,7%	34,6%	100

Tab. 58: Absolute Anzahl der Tiere je Generation, Exposition und Gruppe mit der Maximalkonzentration zum jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt

Generation/Exposition/Gruppe	Zeitpunkt des maximalen Kortikosteronwertes							Gesamtzahl
	t0	t15	t30	t45	t60	t90	t120	
F0a/GSM	0	0	0	1	3	7	12	23
F0a/UMTS	0	0	2	1	6	6	11	26
F0a/SHAM	0	1	2	6	9	9	8	35
F0b/GSM	0	1	1	2	5	11	7	27
F0b/UMTS	0	0	3	5	3	4	9	24
F0b/SHAM	0	4	1	5	8	8	7	33
F2/GSM	1	0	3	2	9	12	13	40
F2/UMTS	0	1	4	3	5	9	20	42
F2/SHAM	1	1	3	2	6	15	13	41

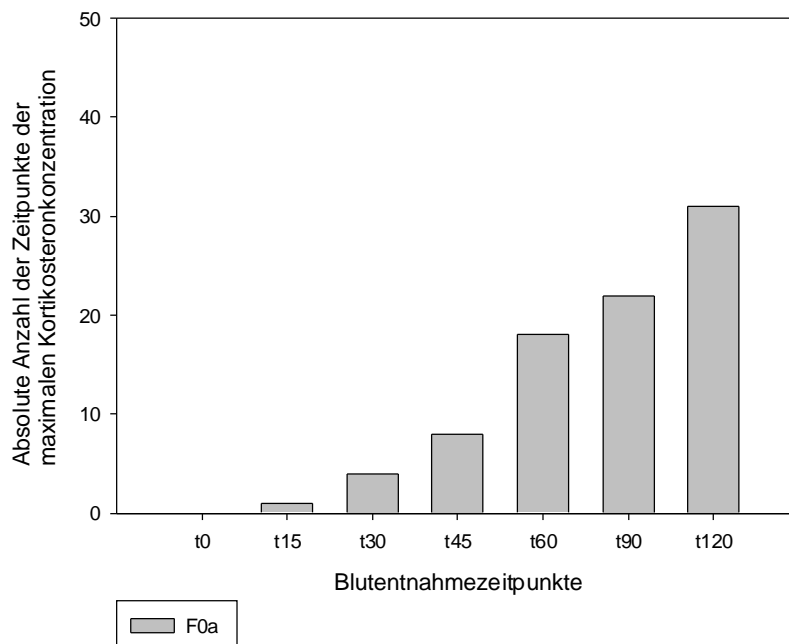


Abb. 55: Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in der F0a-Generation unabhängig von der Exposition

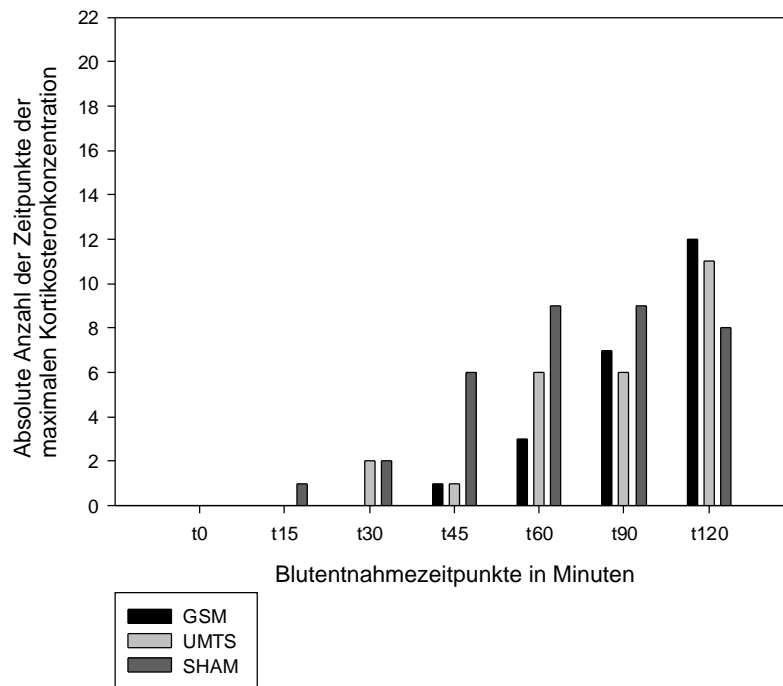


Abb. 56: Gegenüberstellung der expositionsbezogenen Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration in der Generation F0a bei den Versuchsgruppen GSM (n = 23), UMTS (n = 26) und SHAM (n = 35)

2.6.2 Generation F0b

Es wurde eine deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration durchgeführt. In der Generation F0b wurde die Maximalkonzentration von Null Tieren zum Zeitpunkt t0, von fünf Tieren zum Zeitpunkt t15, von fünf Tieren zum Zeitpunkt t30, von zwölf Tieren zum Zeitpunkt t45, von 16 Tieren zum Zeitpunkt t60, von 23 Tieren zum Zeitpunkt t90 und von 23 Tieren zum Zeitpunkt t120 erreicht.

Der Median der Zeitpunkte der Maximalkonzentration liegt bei den GSM-exponierten Tieren in der Generation F0b bei 90 Minuten. Bei den UMTS-exponierten Tieren liegt der Median bei 90 Minuten und bei den SHAM-exponierten Tieren bei 60 Minuten.

Die deskriptive Statistik über die Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in den unterschiedlichen Generationen ist Tab. 57 zu entnehmen, die Auflistung über die absolute Anzahl der Tiere je Generation und Exposition mit der Maximalkonzentration zum jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt findet sich in Tab. 58. Die entsprechenden graphischen Darstellungen sind Abb. 57 und 58 zu entnehmen.

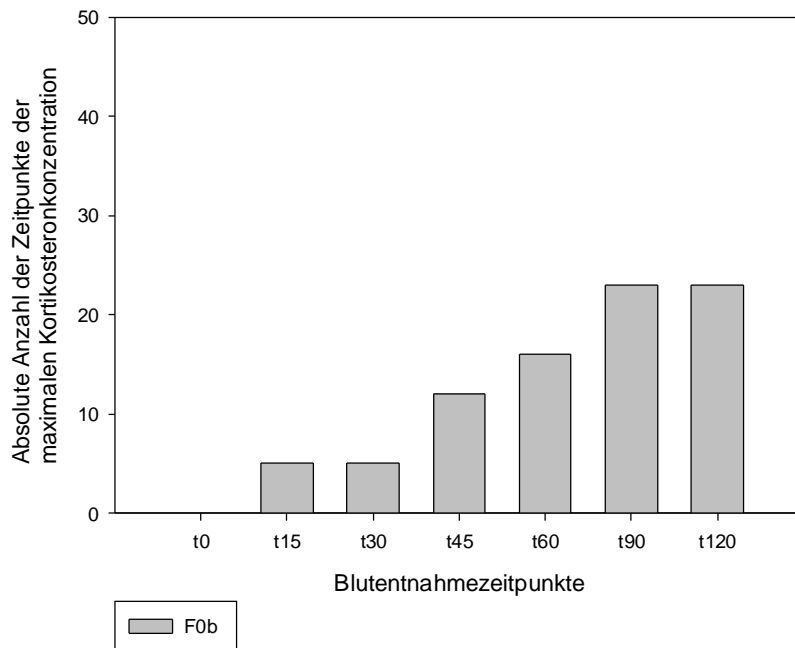


Abb. 57: Darstellung Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in der F0b-Generation unabhängig von der Exposition

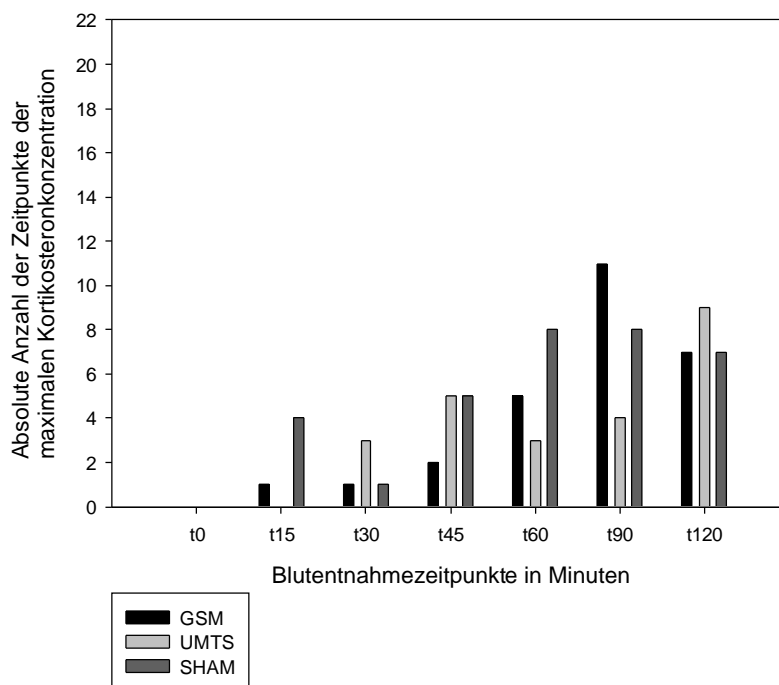


Abb. 58: Gegenüberstellung der expositionsbezogenen Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration in der Generation F0b bei den Versuchsgruppen GSM (n = 27), UMTS (n = 24) und SHAM (n = 33)

2.6.3 Generation F2

Es wurde eine deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration durchgeführt. In der Generation F2 wurde die Maximalkonzentration von zwei Tieren zum Zeitpunkt t0, von zwei Tieren zum Zeitpunkt t15, von zehn Tieren zum Zeitpunkt t30, von sieben Tieren zum Zeitpunkt t45, von 20 Tieren zum Zeitpunkt t60, von 36 Tieren zum Zeitpunkt t90 und von 47 Tieren zum Zeitpunkt t120 erreicht.

Der Median der Zeitpunkte der Maximalkonzentration liegt bei den GSM-, UMTS- und bei den SHAM-exponierten Tieren bei 90 Minuten.

Die deskriptive Statistik über die Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in den unterschiedlichen Generationen ist Tab. 57 zu entnehmen, die Auflistung über die absolute Anzahl der Tiere je Generation, Exposition und Gruppe mit der Maximalkonzentration zum jeweiligen Blutentnahmezeitpunkt findet sich in Tab. 58. Die entsprechenden graphischen Darstellungen sind Abb. 59 und 60 zu entnehmen.

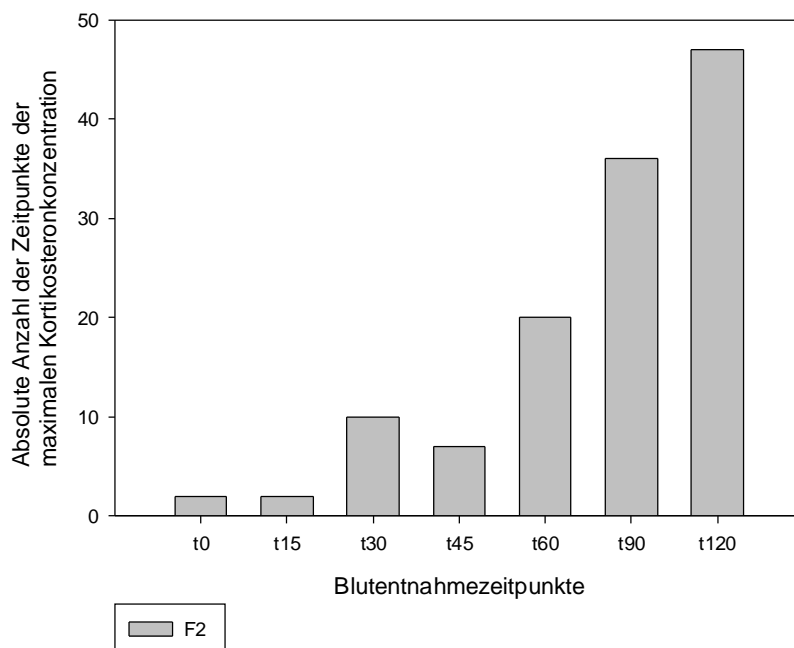


Abb. 59: Darstellung Verteilung der Maximalkonzentrationen auf die Blutentnahmezeitpunkte in der F2-Generation unabhängig von der Exposition

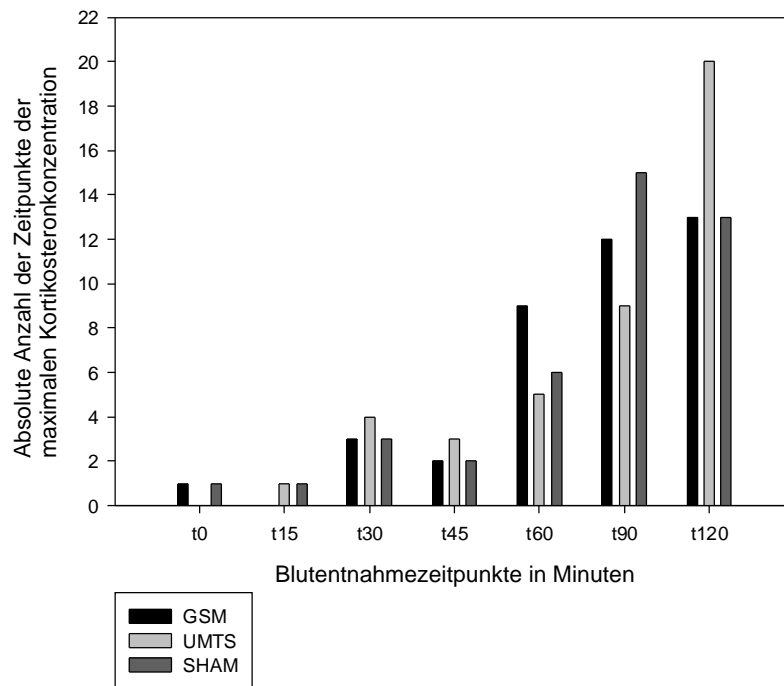


Abb. 60: Gegenüberstellung der expositionsbezogenen Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration in der Generation F2 bei den Versuchsgruppen GSM (n = 40), UMTS (n = 42) und SHAM (n = 41)

2.6.4 Vergleich der Generationen

Die deskriptive Analyse der Zeitpunkte des Auftretens der Maximalkonzentration in den einzelnen Generationen ist den Tab. 57 und 58 zu entnehmen. Die graphische Darstellung des Auftretens der Maximalkonzentration in den verschiedenen Generationen - aufgegliedert nach den Expositionsgruppen GSM, UMTS und SHAM – ist Abb. 61, 62 und 63 zu entnehmen.

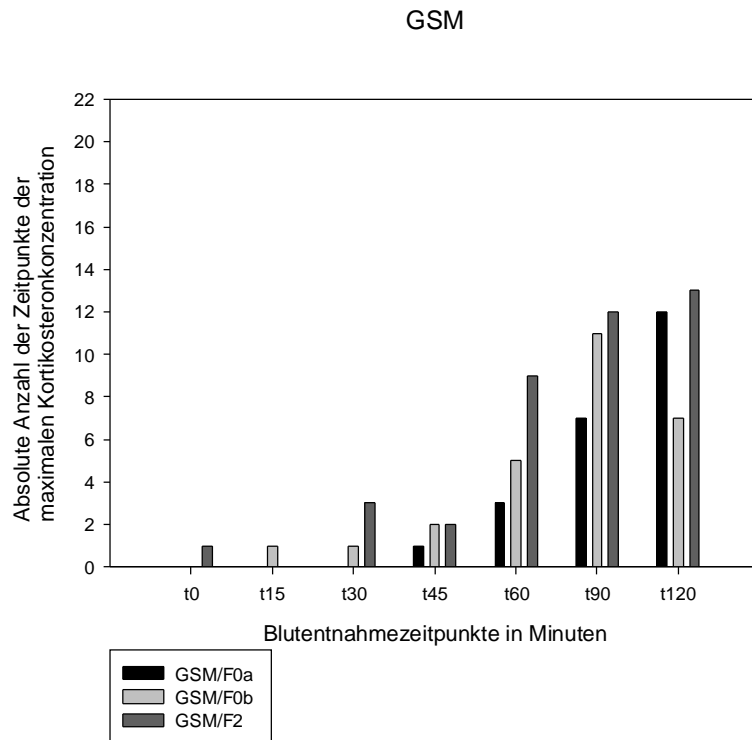


Abb. 61: Vergleich der Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration zwischen den Generationen der GSM-exponierten Tiere

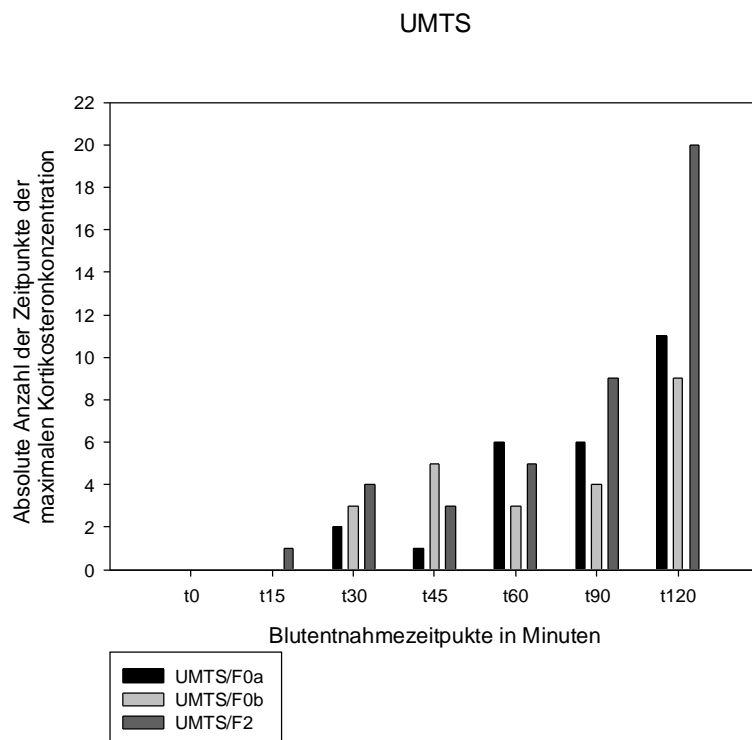


Abb. 62: Vergleich der Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration zwischen den Generationen der UMTS-exponierten Tiere

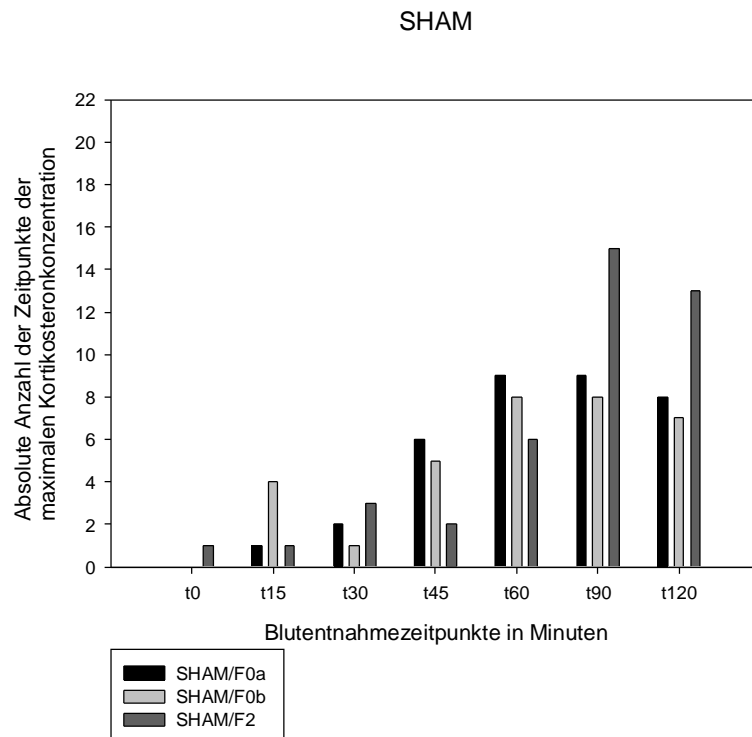


Abb. 63: Vergleich der Häufigkeit der Zeitpunkte der Maximalkonzentration zwischen den Generationen der SHAM-exponierten Tiere

3. Zusammenfassung der Ergebnisse des Hauptversuches

Insgesamt konnte im Hauptversuch festgestellt werden, dass in der Generation F0a kein signifikanter Einfluss der Exposition bestand. In Generation F0b konnte ein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,001$) nachgewiesen werden: die AUC der exponierten Tiere war sowohl bei den GSM- als auch bei den UMTS-exponierten Tieren größer als bei den Tieren der SHAM-Exposition. In der Generation F2 konnte erst nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ ein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,004$) und der Interaktion zwischen Exposition und Gewicht ($p = 0,005$) festgestellt werden. Dies bedeutet, dass der Einfluss der Exposition je nach Gewicht unterschiedlich ist. Für die GSM- und SHAM-Exposition heißt dies, dass mit der Gewichtszunahme die Größe der AUC sinkt. Unter UMTS-Exposition hingegen steigt die Größe der AUC mit zunehmendem Gewicht.

Bei der Untersuchung des Einflusses der Exposition auf den basalen Kortikosteronwert konnte in der Generation F0b ein signifikanter Einfluss der Exposition auf die basale Kortikosteronkonzentration nachgewiesen werden: die

Basalwerte der GSM- und UMTS-exponierten Tiere liegen jeweils signifikant niedriger als bei den Tieren der SHAM-Gruppe.

Die Untersuchung des Einflusses der Blutentnahmedauer auf die basale Kortikosteronkonzentration ergab in keiner der Untersuchungsgruppen (F0a, F0b, F2) einen signifikanten Einfluss.

Die Analyse der Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt tMax und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 ergab in den Generationen F0a und F2 keinen signifikanten Einfluss der Exposition. In der Generation F0b konnte ein signifikanter Einfluss der Exposition auf Diff_Cort_Max_Basal festgestellt werden. In allen drei Generationen war ein Einfluss der Gruppe auf die Größe von Diff_Cort_Max_Basal nachweisbar.

Die deskriptive Auswertung der Zeitpunkte, an denen jeweils die maximale Kortikosteronkonzentration erreicht wurde, ergab auf allen Generationen bezogen: 0,7 % der untersuchten Tiere erreichten die maximale Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0, 2,7 % zum Zeitpunkt t15, 6,5 % zum Zeitpunkt t30, 9,2 % zum Zeitpunkt t45, 18,5 % zum Zeitpunkt t60, 27,7 % zum Zeitpunkt t90 und 34,6 % zum Zeitpunkt t120.

V. Diskussion

1. Allgemeines

Die vorliegende Untersuchung „Langzeituntersuchungen zum potentiellen Einfluss elektromagnetischer Strahlung (GSM, UMTS) auf das Stressgeschehen der Ratte“ wurde im Auftrag des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit und des Bundesamtes für Strahlenschutz durchgeführt.

Den Anstoß für dieses Projekt gaben das in den vergangenen Jahren gewachsene öffentliche Interesse an potentiellen gesundheitsschädlichen Risiken durch die von Mobilfunkgeräten erzeugten elektromagnetischen Felder und die Frage nach Langzeiteffekten und nach der Zulänglichkeit der festgelegten Grenzwerte.

Trotz Durchführung von Tierversuchen gibt es bisher nur wenige Untersuchungen zu Langzeitwirkungen elektromagnetischer Strahlung bei kontinuierlicher Exposition. Deshalb war es Ziel des vorliegenden Experimentes, durch Untersuchungen zur Stressbelastung an Ratten, die sich täglich 24 Stunden unter elektromagnetischer Exposition befanden, bestehende Lücken im Wissen um Langzeitwirkungen durch elektromagnetische Strahlung zu schließen, die bestehenden Grenzwerte zu bestätigen oder Anregungen für Änderungen zu geben.

2. Diskussion des Vorversuches

Ziel des Vorversuches war es, den Einfluss einer Inhalationsnarkose und des routinemäßigen Handlings auf das Stressgeschehen der Ratte zu bestimmen und den Einfluss zweier Inhalationsnarkotika (Isofluran versus Halothan) anhand der im Blut bestimmten Kortikosteronwerte gegenüber zu stellen.

Da sich die Blutentnahme bei Labortieren aufgrund ihrer Wehrhaftigkeit, der Größe und dem damit verbundenen Stress für die Tiere schwieriger als bei anderen Tierarten erweist und aus diesen Gründen unter Anästhesie durchgeführt werden sollte, sollten auch die Blutentnahmen des nachfolgenden Hauptversuches unter Narkose statt finden. Eine Inhalationsnarkose gewährleistet eine baldige Erholung der Tiere nach Narkosebeendigung und eine ausreichende Narkosetiefe kann schnell erreicht werden, die Inhalationsnarkose wird deshalb der Injektionsnarkose vorgezogen (DECKARDT ET AL., 2007).

Für den Vorversuch wurden drei Versuchsgruppen festgelegt: Versuchsgruppe 1 (Blutentnahme unter Isofluran-Narkose), Versuchsgruppe 2 (Blutentnahme unter Halothan-Narkose) und Versuchsgruppe 3 (Kontrollgruppe, Blutentnahme am wachen Tier). Alle Tiere erfuhren in der Versuchsvorbereitungsphase über 15 Wochen ein identisches Handling und wurden an die Versuchsumgebung und –bedingungen gewöhnt, wodurch eine Beeinflussung des Stressgeschehens durch das Handling während der Blutentnahmen reduziert werden kann (WEISS ET AL., 2003).

Bei den Versuchstieren handelte es sich – wie im Hauptversuch – um weibliche Albino-Ratten vom Stamm WISTAR, RjHAN. Die Besatzdichte (drei Tiere pro Käfig) war mit der des Hauptversuches identisch. Die Haltung erfolgte wie im anschließenden Hauptversuch unter Standardbedingungen und das Lichtprogramm war ebenfalls mit dem des Hauptversuches identisch.

Insgesamt ergaben die Vorversuche, dass die Narkose per se keinen signifikanten Einfluss auf die basale Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 hatte und dass kein signifikanter Unterschied zwischen den verwendeten Inhalations-Anästhetika bestand.

Die Blutentnahmen im Hauptversuch sollte wegen der leichteren Versuchsabwicklung in Narkose durchgeführt werden. Da zwischen den Anästhetika kein signifikanter Unterschied vorhanden war, wurde Isofluran als Anästhetikum ausgewählt. Isofluran ist derzeit das in der Praxis zumeist verwendete Inhalations-Anästhetikum und ist auch einfacher zu beziehen, da Halothan für den normalen Praxisgebrauch nicht mehr zugelassen ist.

Die Injektion von ACTH erfolgte wie im Hauptversuch intraperitoneal und in einer Dosierung von 100 µg/kg Körpergewicht. In der Literatur werden für die Durchführung eines ACTH-Stimulationstests bei der Ratte unterschiedliche Dosierungen angegeben: 0,5 und 1,5 µg/kg Körpergewicht (KAMPHUIS et al., 2002), 20 µg/kg Körpergewicht (RAFF ET AL., 2004), 0,02 mg/100 g Körpergewicht (entspricht 200 µg/kg Körpergewicht) (HALLER, 1969), 3 ng/Ratte (entspricht 3000 µg/Ratte) (SAGE ET AL., 2002; HESKETH ET AL., 2007), und 100 µg/kg Körpergewicht (FRASER ET AL., 2001; HINSON ET AL., 2001).

Die Ergebnisse des Vorversuches zeigten, dass in allen Versuchsgruppen nach ACTH-Applikation ein signifikanter Anstieg der Kortikosteronkonzentration zwischen dem Zeitpunkt t0 und t15 erfolgte. Dies lässt den Schluss zu, dass die

intraperitoneale ACTH-Injektion korrekt durchgeführt wurde und durch die gewählte Dosierung von 100 µg/kg Körpergewicht eine ausreichende Stimulation der Nebenniere erzielt werden konnte.

3. Diskussion des Hauptversuches

3.1 Diskussion der Methoden

3.1.1 Tierauswahl

Für die vorliegende Untersuchung wurden Ratten als Versuchstiere ausgewählt. Die Gründe für die Wahl der Ratte als Versuchstier für dieses Experiment waren ihre leichte Verfügbarkeit, ihre hohen Nachkommenzahl und die unproblematische Zucht und Haltung unter Laborbedingungen (WEISS ET AL., 2003). Durch die Wahl der Ratte als Versuchstier wurde eine Untersuchung über mehrere Generationen in einer überschaubaren Zeitspanne ermöglicht und an einer hohen Anzahl von Tieren. Zudem weisen Ratten eine ausreichende Größe für verschiedenste operative Eingriffe und in ihren physiologischen Eigenschaften eine Reihe von Ähnlichkeiten mit der Physiologie des Menschen auf (WEISS ET AL., 2003).

Im Hinblick auf diese Aspekte erwies sich die Ratte als geeignetes Versuchstier. Die der Ratte zuerkannte bemerkenswerte Anpassungsfähigkeit (WEISS ET AL., 2003) spricht auf den ersten Blick zwar gegen ihre Eignung als Versuchstier, da die Anpassungsfähigkeit zur Konsequenz haben könnte, dass in Langzeitversuchen eventuelle Effekte nicht mehr nachgewiesen werden können, da sich die Ratte bereits an die neuen Lebensumstände adaptiert hat. Ungeachtet dessen sind aber an Menschen oder größeren Versuchstieren (z.B. Primaten) derartige Untersuchungen mit einer gleichmäßigen 24-Stunden-Exposition an einer hohen Anzahl an Probanden im Langzeitversuch nicht umzusetzen und werden auch in Zukunft der Zuhilfenahme kleinerer Versuchstiere bedürfen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden ausschließlich weibliche Albino-Ratten vom Stamm WISTAR, RjHAN verwendet. Durch die Verwendung ausnahmslos weiblicher Tiere konnte der von verschiedenen Autoren beschriebene Einfluss des Geschlechtes auf die Kortikosteronkonzentration und auf den Kortikosteronverlauf nach Stressbelastung (KANT ET AL., 1983; PANAGIOTAROPOULOS ET AL., 2004) ausgeschlossen werden.

3.1.2 Haltungsbedingungen und Fütterung

Die Versuchstiere erhielten Haltungsfutter für Ratten. Die Fütterung und Wasserversorgung erfolgte ad libitum. Die Tiere wurden in den Expositionskammern unter Standardbedingungen bei einer Raumtemperatur von 20°C (\pm 3°C) und einer Luftfeuchte von 60 % (\pm 15 %) gehalten.

Durch die Ad-libitum-Fütterung konnte vermieden werden, dass durch zu geringe Futteraufnahme ein erhöhter Kortikosteronspiegel hervorgerufen wird (HEIDERSTADT ET AL., 2000), der nicht durch die Stressbelastung durch Exposition, sondern durch die zu geringe Futteraufnahme entsteht. Ein eingeschränkter Zugang zu Wasser stellt nach HEIDERSTADT ET AL. (2000) - im Gegensatz zum chronisch reduzierten Körpergewicht und zur Futterreduktion - keinen Stressor dar. Es ist aber insgesamt nicht vollständig auszuschließen, dass dennoch auch ein eingeschränkter Zugang zu Wasser als Stressor wirken kann. Diesem potentielle Einfluss der Wasserversorgung wurde durch die ad libitum-Wasserversorgung vorgebeugt.

Durch die Haltung unter Standardbedingungen ist kein Einfluss auf das Stressgeschehen durch die Haltungsbedingungen zu erwarten.

3.1.3 Handling und Routinemaßnahmen

Die Haltung von Versuchstieren ist immer - auch wenn die Tiere zur Versuchsdurchführung möglichst ungestört bleiben sollen - mit einem unvermeidbarem Mindestmaß an notwendigem Handling und mit Routinemaßnahmen verbunden. Dazu gehören u.a. das Herausnehmen aus den gewohnten Käfigen zu Säuberungszwecken und das Verbringen in neue, gereinigte Käfige.

BROWN UND MARTIN (1974) zeigten, dass das Setzen der Versuchstiere in eine neue Umgebung einen stärkeren Kortikosteronanstieg bewirkt als ein Handling über 5 Sekunden. TULI ET AL. (1995) fanden heraus, dass männliche Mäuse, die aus der gewohnten Umgebung wegtransportiert und unmittelbar nach dem Transport getötet wurden, einen signifikant höheren Kortikosteronwert aufwiesen als die Mäuse, die ohne Transport unmittelbar nach Herausnehmen aus dem Käfig getötet worden waren. DUKE ET AL. (2001) ermittelten mit ihren Untersuchungen, dass das Verbringen von männlichen Sprague-Dawley Ratten in eine neue Umgebung mit neuer Einstreu einen vorübergehenden, aber signifikanten Anstieg der Herzfrequenz und des Erkundungs- und Pflegeverhaltens zur Folge hatte.

Durch gezieltes Gewöhnen der Tiere an bestimmte experimentelle Abläufe (z.B. Aufnehmen der Tiere in die Hand, Simulation einer intraperitonealen Injektion, Fixierung der Gliedmaßen und des Schwanzes, Fixierung der Tiere zur Injektion) und an die unterschiedlichen Untersuchungsräume (z.B. Verbringen der Tiere in die Narkoseröhre) kann die im Experiment anfallende Stressbelastung, die zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen könnte, erheblich reduziert werden (WEISS ET AL., 2003).

Im Hauptversuch erfolgte aufgrund der hohen Tierzahl im Vorfeld keine gezielte Gewöhnung der Tiere an die experimentellen Abläufe. Die Tiere wurden aber durch das routinemäßige Handling im Rahmen der Tierpflege (Herausnehmen aus den Käfigen, Aufnehmen in die Hand, Berührung an Bauch und Schwanz, Umsetzen in andere Käfige) an den Umgang mit Menschen gewöhnt. Durch die lange Expositionszeit bis zu den ersten Blutentnahmen ist durchaus von einer Gewöhnung an den Vorgang des Umsetzens und an neue Umgebungen auszugehen. Im Gegensatz zum Vorversuch erfolgten im Hauptversuch auch alle Blutentnahmen unter Inhalationsanästhesie, so dass eine Gewöhnung der Tiere an die Blutentnahme nicht als zwingend notwendig erachtet wurde.

3.1.4 Stressparameter bei der Ratte

Kortikosteron wurde als Parameter zur Beurteilung des Stressgeschehens der Versuchstiere ausgewählt, da es in der Literatur häufig als Parameter zur Beschreibung des Stressgeschehens bei der Ratte herangezogen wird (GÄRTNER ET AL., 1980; DE BOER ET AL., 1990; MÖSTL, 2000; PIHL UND HAU, 2003; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003; RAFF ET AL., 2004; LEPSCHY ET AL., 2007). Der Grund dafür ist, dass das Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierensystem und damit Glukokortikosteroide im Stressgeschehen eine entscheidende Rolle spielen. Kortikosteron ist bei Ratte und Maus das entscheidende Glukokortikosteroid (BAMBERG, 1987; MAHL ET AL., 2000).

Als weitere Parameter zur Beurteilung des Stressgeschehens können folgende Substanzen herangezogen werden: Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin), β -Endorphine (Vorläufersubstanz des ACTHs), Oxytocin, Prolactin und Renin (BAMBERG, 1987; HAEMISCH ET AL., 1999; VAN DE KAR UND BLAIR, 1999; PETRIDES, 1998; MÖSTL, 2000; CARRASCO UND VAN DE KAR, 2003), Lymphozyten, ACTH, Glucose (DE BOER ET AL., 1990; STEFANSKI, 2000; MAHL ET AL., 2000; RAFF ET AL.,

2004; MÁRQUEZ ET AL., 2004; VAHL ET AL., 2005; CAR ET AL., 2006) und IgA (PIHL UND HAU, 2003; ERIKSSON ET AL., 2004; ROYO ET AL., 2004).

Ein genereller Nachteil der Bestimmung von Kortikosteron als Stressparameter ist, dass es in der Literatur Hinweise darauf gibt, dass die Konzentrationsänderung des Kortikosterons von der Art des Stressors beeinflusst werden kann (RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003) und dass Kortikosteron für mittelschwere und schwere Stressoren ein ungeeigneter Parameter ist, da die Antwort der Nebenniere auf ACTH durch einen mittleren ACTH-Spiegel im Blut erschöpft werden kann (MÁRQUEZ ET AL., 2004). Ein weiterer Aspekt der bei der Bestimmung von Kortikosteron als Stressparameter berücksichtigt werden muss, ist die Tatsache, dass der Abbau der Glukokortikoide in der Leber, aber auch in einigen anderen Geweben (z.B. Lunge, Nieren, Gonaden) erfolgt und die Abbauprodukte als Konjugate über die Nieren und den Kot ausgeschieden werden (BAMBERG, 1987; TYRELL ET AL., 1994; PETRIDES, 1998; MÖSTL, 2000; PALME ET AL., 2005). Aufgrund dessen beeinflussen auch vom Stressgeschehen unabhängige Veränderungen der genannten Organe (Tumoresen etc.) die Kortikosteronkonzentration im Organismus, wenn durch diese Veränderungen der Abbau oder die Ausscheidung der Glukokortikoide gestört wird.

Zusätzlich zu aufwendig bestimmten Blutparametern liefert die klinische Beurteilung physiologischer Parameter (Atemfrequenz, periphere Blutzirkulation, Körperkerntemperatur, Futteraufnahme, Kotbeschaffenheit etc.) und des Verhaltens (z.B. Vokalisation, zusammengekrümmtes Sitzen, Fehlen von Erkundungsverhalten, Chromodacryorrhoe) wichtige Hinweise auf das Wohlbefinden der Versuchstiere und gibt Hinweise auf eine Stress-Situation (NATELSON ET AL., 1987; BERNATZKY, 1997; WOLFENSOHN UND LLOYD, 1998). In der vorliegenden Untersuchung wurden die Tiere täglich adspektorisch auf gesundheitliche Auffälligkeiten kontrolliert. Zur Überprüfung und Dokumentation des Gesundheitszustandes wurden die Tiere einmal pro Woche gewogen und dabei einer eingehenden Allgemeinuntersuchung unterzogen.

Um einen umfassenden Überblick über das Wohlbefinden und damit das Stressgeschehen der Ratten zu bekommen, sollten mehrere Stressparameter miteinander kombiniert werden. Im vorliegenden Experiment wurde die Serumkortikosteronkonzentration kombiniert mit regelmäßiger adspektorischer Kontrolle und regelmäßigen Gewichtskontrollen. Zusätzlich umfasste das Experiment noch eine weitere Untersuchungsgruppe, die sich mit dem Immunsystem, das eng mit dem Stressgeschehen verknüpft ist, unter Dauereexposition beschäftigte. Weitere

in dieses Experiment integrierte Untersuchungsgruppen (Untersuchungen zur kognitiven Leistung, Untersuchungen zur Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke) liefern ergänzende Informationen über die von elektromagnetischer Dauerexposition ausgehenden Effekte und über das Wohlbefinden und die körperliche Verfassung der Versuchstiere (BUNDESAMT FÜR STRAHLENSCHUTZ, 2007).

3.1.5 Gewinnung der Blutproben

Die Blutentnahmen, die im Ablauf bei allen Tieren identisch war, erfolgte an allen Versuchstagen zwischen 9.00 und 11.00 Uhr MEZ unter Inhalationsanästhesie mit Isofluran aus den Schwanzvenen (Vv. coccygicae). Insgesamt wurden pro Tier sieben Blutentnahmen durchgeführt (t0, t15, t30, t45, t60, t90 und t120) und pro Entnahmezeitpunkt wurde ein Blutvolumen von ca. 0,5 ml entnommen. Um die Verblindung des Versuches zu gewährleisten wurden die Tiere durch eine unabhängige Person in den Untersuchungsraum gebracht.

Die Entnahme erfolgte unter Anästhesie. Eine Inhalationsnarkose gewährleistet eine baldige Erholung der Tiere nach Narkosebeendigung und eine ausreichende Narkosetiefe kann schnell erreicht werden, die Inhalationsnarkose wird deshalb der Injektionsnarkose vorgezogen (DECKARDT ET AL., 2007). Der dem Hauptversuch vorangegangene Vorversuch ergab, dass die Narkose per se keinen signifikanten Einfluss auf die basale Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0 hatte. Generell ist aber festzuhalten, dass kein Narkosemittel völlig nebenwirkungsfrei zu sein scheint und dass es in der Literatur durchaus Hinweise auf Probleme beim Einsatz verschiedener Inhalations-Anästhetika gibt (HORN, 1977; FENWICK UND BLACKSHAW, 1989).

Verschiedene Autoren konnten aber belegen, dass Isofluran bei der Wahl des Anästhetikums zu bevorzugen und als geeignetes Narkosemittel anzusehen ist: ALTHOLTZ ET AL. (2006) konnten ermitteln, dass bei Ratten der Basis-Kortikosteronwert bei Isofluran-exponierten Tieren höher war als bei CO₂-exponierten Tieren, aber auch, dass im weiteren Versuchsverlauf die Kortikosteronkonzentrationen bei den CO₂-exponierten Tieren höher waren als bei den Isofluran-exponierten Tieren. Daraus ist zu schlussfolgern, dass bei mehreren aufeinander folgenden Blutentnahmen am gleichen Tier eine Isofluran-Narkose die bessere Wahl ist. GONZÁLEZ-GIL ET AL. (2006) stellten bei neuseeländischen

Kaninchen bei dem Vergleich von Halothan und Isofluran auf die Serum-Kortikosteronkonzentration fest, dass bei ihren Untersuchungen der Kortikosteronwert während der Isofluran- und der Halothan-Narkose ansteigt und über den gesamten Narkoseverlauf im Vergleich zum Basalwert erhöht bleibt, aber dass der Kortikosteronwert unter Isofluran-Narkose niedriger war als unter Halothan-Narkose. FITZNER ET AL. (2006) untersuchten unterschiedliche Blutentnahmetechniken und unterschiedliche Anästhesie-Methoden (CO₂, Isofluran, ohne Anästhesie) bei Labor-Ratten: die Tiere unter Isofluran-Narkose wiesen einen geringeren Blutdruckanstieg auf und eine geringere Schwankung der Körpertemperatur während der Blutentnahme. Auch diese Autoren ziehen aus ihren Experimenten die Schlussfolgerung, dass Isofluran das Narkosegas der Wahl ist. DECKARDT ET AL. (2007) untersuchten ebenfalls verschiedene Anästhetika (Äther, Methoxyfluran, Isofluran, Kohlendioxid) und konnten bei der Isofluran-Narkose eine sehr gleichmäßige und fast stressfreie Narkoseeinleitung und Erholungsphase ermitteln. Ein Einfluss auf die Kortikosteronkonzentration konnte bei keinem der Anästhetika nachgewiesen werden.

Die Bestimmung von Glukokortikoiden kann prinzipiell aus verschiedenen Körperflüssigkeiten und Ausscheidungsprodukten erfolgen: aus Milch, Speichel, Kot, Urin und Blut (MÖSTL UND PALME, 2002; MORMEDÉ ET AL., 2007). Zur Bestimmung der Kortikosteronkonzentration findet bei der Ratte als Probenmaterial Blut (NATALSON ET AL, 1981; NATELSON ET AL, 1987; DE BOER ET AL., 1990; VAHL ET AL, 2005; RAFF ET AL., 2007), Urin und Kot (BAMBERG ET AL., 2001; PIHL UND HAU, 2003; CAVIGELLI ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007) Verwendung.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen erfolgte die Bestimmung des Kortikosterons aus dem Blut der Versuchstiere. Blut erwies sich aufgrund folgender Überlegungen als das beste Medium zur Kortikosteronkonzentration-Bestimmung:

Die Gewinnung des Urins ist bei der Ratte aufwendiger und kostenintensiver als die Gewinnung von Kot oder die Gewinnung von Urin bei anderen Tierarten. Der Grund für die höheren Kosten sind die geringe Körpergröße der Ratte und die zur Uringewinnung speziell notwendigen Apparaturen und Käfige, die ihrerseits selbst einen Stressfaktor darstellen können und an welche die Tiere im Versuchsvorfeld gewöhnt werden müssen (BAMBERG ET AL., 2001; ERIKSSON ET AL., 2004). Die Gewinnung von Kot ist durch einfaches Aufsammeln aus den Versuchskäfigen oder durch Stoffwechselkäfige möglich (BAMBERG ET AL., 2001; PIHL UND HAU, 2003;

ERIKSSON ET AL., 2004; LEPSCHY ET AL., 2007), wodurch die Notwendigkeit der Manipulation der Versuchstiere zur Probengewinnung entfällt. Die Bestimmung der Kortikosteronkonzentration aus Kot bietet den Vorteil, dass die Beurteilung des Stressgeschehens über einen längeren Zeitraum ermöglicht wird, im Gegensatz zu einer zeitlich sehr begrenzten Beurteilung bei der Blutentnahme (BAMBERG ET AL., 2001; PIHL UND HAU, 2003; CAVIGELLI ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007). Aber MILLSPAUGH UND WASHBURN (2003) führen an, dass bis zur weiteren Klärung der Einflüsse von Alter, Fütterung, Kotabsatzfrequenz, Kotmenge des einzelnen Versuchstieres, körperliche Verfassung und weiteren Parametern die Interpretation der Kortikosteroidmetaboliten im Kot schwierig bleiben wird. Zudem ist bei der Bestimmung der Kortikosteroidmetaboliten aus Kot in der Regel keine Untersuchung individueller Unterschiede möglich.

In der Literatur werden zur Durchführung wiederholter Blutentnahmen in kurzen Zeitabständen Dauerkatheter, fixierte Butterfly-Kanülen oder die mehrfache Punktion der Schwanzvenen empfohlen (MORTON ET AL., 1993; SHARP UND LA REGINA, 1998; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999; DIEHL ET AL., 2001).

Einer Ratte sollte an einem Tag maximal 1,8 ml Blut pro 300 g Körpermasse entzogen werden (MORTON ET AL., 1993; GESELLSCHAFT FÜR VERSUCHSTIERKUNDE, 1999). Im vorliegenden Experiment wurde den Tieren pro Entnahmezeitpunkt ein Blutvolumen von ca. 0,5 ml entnommen. Insgesamt ergibt dies ein Blutvolumen von 3,5 ml pro Untersuchungstag. Zum Untersuchungszeitpunkt wogen die Tiere zwischen 205 und 421 Gramm. Jedem Tier wurden aber nur einmalig und innerhalb von zwei Stunden sieben Blutproben entnommen, sie erhielten im Anschluss an die Entnahmen subkutane Infusionen und die Tiere schieden im Anschluss an diesen Versuch aus dem Experiment aus. Eine Beeinflussung von Ergebnissen der übrigen Untersuchungsgruppen durch den Blutverlust ist also ausgeschlossen. Der Einfluss der Entnahmedauer auf die Kortikosteronkonzentration wurde statistisch ausgewertet. Zum Zeitpunkt t_0 konnte kein signifikanter Einfluss der Entnahmedauer auf die Kortikosteronkonzentration festgestellt werden. Die Auswertung der übrigen Zeitpunkte erfolgt mittels deskriptiver Statistik.

Die Entnahme der Blutproben sollte in maximal drei Minuten - gemessen ab dem Zeitpunkt des Herausnehmens aus dem Käfig - abgeschlossen sein (Gärtner et al., 1980; VAHL ET AL, 2005; LEPSCHY ET AL., 2007). Die drei Minuten-Grenze konnte bei der Durchführung des vorliegenden Experimentes insofern nicht eingehalten werden,

da diese Zeit bereits durch die Einleitung der Narkose und die Umlagerung der Tiere an die individuellen Kopfkammern überschritten wurde. Die Ergebnisse des Vorversuches hatte allerdings ergeben, dass die Narkose per se keinen Einfluss auf die Kortikosteronkonzentration hat und auch die Literatur belegt, dass durch eine Isofluran-Narkose eine sehr gleichmäßige und fast stressfreie Narkoseeinleitung und Erholungsphase ermöglicht wird und kein Einfluss auf die Kortikosteronkonzentration nachgewiesen werden konnte (DECKARDT ET AL., 2007). Eine Beeinflussung der Kortikosteronkonzentration durch die Zeitverzögerung bis zur Blutentnahme kann also ausgeschlossen werden. Insgesamt betrug der höchste Mittelwert, der im Verlauf des Experimentes aufgetreten ist, 6,6 Minuten.

3.1.6 ACTH-Applikation und ACTH-Test

Die Injektion von ACTH erfolgte wie im Vorversuch intraperitoneal und in einer Dosierung von 100 µg/kg Körpergewicht. Die Ergebnisse des Vorversuches zeigen, dass in allen Versuchsgruppen nach ACTH-Applikation ein signifikanter Anstieg der Kortikosteronkonzentration zwischen dem Zeitpunkt t₀ und t₁₅ erfolgte. Der Vorversuch führte zu dem Schluss, dass durch die gewählte Dosierung von 100 µg/kg Körpergewicht eine ausreichende Stimulation der Nebenniere erfolgt ist.

In der Literatur ist beschrieben, dass Stress unter chronischen Bedingungen von einer physiologischen Reaktion in eine maladaptive Belastung mit einer schädigenden Wirkung auf viele Körperfunktionen (wie z.B. das Immunsystem) übergehen kann (MUNCK ET AL., 1984; COHEN ET AL., 1991).

Die dem Versuch zugrunde liegende Überlegung war, dass bei chronischer Belastung, z.B. Dauerexposition im elektromagnetischen Feld, von einer permanent erhöhten Aktivität der Nebenniere auszugehen ist und der Organismus auf einen exogenen Stressor mit erhöhter Kortikosteronausschüttung reagiert. In der Literatur gibt es Hinweise, dass die erhöhte Serumkonzentration auch länger anhält (BORELL UND LADEWIG, 1986; REDBO, 1992; ROBIA, 1998). Bei erhöhter Ausschüttung von Glukokortikosteroiden im Laufe chronischer Stressbelastung kommt es zudem zu einer Hypertrophie der Nebenniere (ISHIKAWA ET AL., 1995; KOOLHAAS ET AL., 1995; PELLEGRINI ET AL., 1998). Chronisch erhöhte Glukokortikoidkonzentrationen haben schädigende Effekte, wie bei Patienten mit Cushing-Syndrom und als Ergebnis lang

anhaltender Steroidbehandlung mehrfach nachgewiesen wurde (STARKMAN ET AL., 1992; SECKL UND OLSSON, 1995; LUPIEN UND MCEWEN, 1997).

WENZEL ET AL. (2002) konnten mit ihren Untersuchungen zeigen, dass unter dem Einfluss eines hochfrequenten-elektromagnetischen Feldes von Mobilfunkantennen die Kortisolkonzentrationen im Speichel von Rindern nach ACTH-Applikation im Vergleich zu einer unbelasteten Kontrollgruppe deutlicher ansteigen und langsamer wieder abfallen. CAROBREZ ET AL. (2002) zeigten in ihrem Versuch, dass bei Ratten der Kortikosteronspiegel unter dauerhaftem sozialen Stress ansteigt und erhöht bleibt, solange der exogene Stressor einwirkt. Ähnliche Untersuchungen von KEENEY ET AL. (2006) kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass bei Mäusen unter chronischem sozialen Stress durch Rangordnungskämpfe der Kortikosteronspiegel erhöht war im Vergleich zu ungestressten Kontroll-Tieren. RETANA-MÁRQUEZ ET AL. (2003) stellten fest, dass gestresste Tiere eine geringere Gewichtszunahme aufwiesen als die ungestressten Kontroll-Tiere, eine Gewichtsabnahme konnte hingegen nicht festgestellt werden. STEFANSKI (2000) hingegen konnte bei Ratten unter chronischem sozialem Stress einen Gewichtsverlust nachweisen.

Der ACTH-Stimulationstest, dient zur Feststellung einer geänderten Nebennierenrindenaktivität und ist damit geeignet eine chronische Stressbelastung nachzuweisen.

3.1.7 Nachweismethoden des Kortikosterons im Blut und Referenzwerte

Zum Nachweis des Kortikosterons im Blut wurden in bisher durchgeführten Studien Radio-Immun-Assays (RIA) (Takahashi et al., 1998; HAEMISCH ET AL., 1999, VAHL ET AL., 2005; KEAY ET AL., 2006; RAFF ET AL., 2007), High-Performance Liquid Chromatography (OKA ET AL., 1987; LING UND JAMALI, 2003; KEAY ET AL., 2006) und die Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (JANZEN ET AL., 2000) angewandt.

Die Referenzwerte für die Basalkonzentrationen des Kortikosterons variieren in der Literatur. VAHL ET AL. (2005) ermittelten als Kortikosteronwert für Ratten, die zwischen 8.30 Uhr und 9.30 Uhr ohne vorangehende Betäubung dekapitiert wurden, einen Kortikosteronwert von $9,3 \pm 3,8$ ng/ml. Bei Tieren, denen das Blut aus der Schwanzvene entnommen wurde, konnte von VAHL ET AL. (2005) ein Basis-Kortikosteronwert von $34,0 \pm 7,9$ ng/ml festgestellt werden. LEAL ET AL. (1995) geben

als Basalwert für 8.00 Uhr morgens 18 ± 3 nmol/l (entspricht $6,23 \pm 1,04$ ng/ml) nach Dekapitation an.

In den vorliegenden Untersuchungen lagen die ermittelten Mittelwerte der Basalwerte der verschiedenen Untersuchungsgruppen deutlich höher. Die Mittelwerte der Basalwerte variierten von minimal 398,8 bis maximal 660,1 ng/ml. Grundsätzlich ist es von Bedeutung, dass bei der vorliegenden Untersuchung zusätzlich eine Kontrollgruppe untersucht wurde, die unter gleichen Bedingungen, aber ohne Einwirkung eines exogenen Stressors, gehalten wurde. Die Werte dieser Kontrollgruppe sind als versuchsinterne Referenzwerte zu betrachten, weshalb auch beide Expositionsarten bei der statistischen Auswertung immer gegen diese Kontrollgruppe untersucht wurden. Aufgrund des Vorhandenseins dieser Referenzwerte ist ein Abweichen von den in der Literatur angegebenen Werten als vernachlässigbar einzustufen.

3.1.8 Entnahmezeitpunkte der Blutproben

Die erste Blutentnahme erfolgte zum Zeitpunkt t_0 vor der Injektion des synthetischen ACTHs (Synacthen®) um 9.00 Uhr MEZ. Alle weiteren Entnahmen erfolgten 15 (t_{15}), 30 (t_{30}), 45 (t_{45}), 60 (t_{60}), 90 (t_{90}) und 120 (t_{120}) Minuten nach ACTH-Injektion.

Die Kortikosteronkonzentration im Blut der nachtaktiven Ratten weist eine zirkadiane Rhythmik auf, wobei die höchsten Werte in der nächtlichen Dunkelphase auftreten (GALLANT, 1979; NICHOLSON ET AL., 1985; ISHIKAWA ET AL., 1995; ATKINSON UND WADDELL, 1997; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003; CAVIGELLI ET AL., 2005). Die zirkadiane Rhythmik spielt auch bei der Beurteilung eines Stressgeschehens eine Rolle, da als Reaktion auf einen Stressor ein höherer Kortikosteronanstieg zu erwarten ist, wenn der Stressor zum Zeitpunkt des niedrigen zirkadianen Kortikosteronspiegels einwirkt. Zum Zeitpunkt des zirkadianen Maximums fällt der Kortikosteronanstieg geringer aus (ISHIKAWA ET AL. 1992; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003). Durch die Festlegung des Entnahmezeitpunktes auf die Morgenstunden und das Einhalten der gleichen Uhrzeit für die Blutprobenentnahme an allen Versuchstagen (KRAFT, 2005), konnte ein Einfluss der zirkadianen ACTH- und Kortikosteroid-Sekretion auf die Untersuchungsergebnisse vermieden und eine optimale Reaktion des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierensystems gewährleistet werden.

In der Literatur wird die Halbwertszeit des Kortikosterons im Blut mit ungefähr 60 Minuten angegeben (HAEMISCH ET AL., 1999). Aus diesem Grund erfolgte die letzte Blutentnahme zum Zeitpunkt t120. Bei der Auswertung der Ergebnisse konnte aber festgestellt werden, dass zum Zeitpunkt t120 in keiner der untersuchten Gruppen die Kortikosteronkonzentration unter den Basalwert gefallen war. Ein Signifikanz-Test des Kortikosteronwertes zum Zeitpunkt t90 gegen den Kortikosteronwert zum Zeitpunkt t120 wurde nicht durchgeführt. Dies führt zu der Überlegung, dass in Folgeprojekten weitere Blutentnahmen nach t120 erfolgen sollten bis zum Wiedererreichen des Basalwertes. Desweiteren sollten bei der statistischen Auswertung auch die Werte der letzten und vorletzten Blutuntersuchung gegeneinander getestet werden, um feststellen zu können, ob es zu einem signifikanten Abfall der Werte kommt.

3.1.9 Probenmessung des Kortikosterons mittels ELISA und Durchführung des ELISAs

Die Messung des Kortikosterons erfolgte mittels eines indirekten, auf kompetitiver Basis arbeitenden, kommerziellen ELISAs (Active® Rat Corticosterone, DSL-10-81100), der von der Firma Diagnostic Systems Laboratories Inc. (Texas, USA) hergestellt wurde. Die Durchführung des ELISAs erfolgte gemäß den Herstellerangaben.

Aufgrund der Tatsache, dass der verwendete, kommerziell erhältliche ELISA für die Bestimmung von Kortikosteron aus dem Blut von Ratten bestimmt ist und die Durchführung gemäß Herstellerangaben erfolgte, ist durch die Wahl des ELISAs keine Beeinträchtigung der Ergebnisse zu erwarten.

3.1.10 Statistische Auswertung

Der Hauptparameter der statistischen Untersuchung war gemäß des biometrischen Gutachtens des Instituts für Statistik (StaBLab) der LMU München die AUC (Area under the curve).

Die AUC ist eine in der Statistik und Literatur verwendete Methode, um Verläufe von Konzentrationen über der Zeit zu vergleichen (DE BOER ET AL., 1990; GHIZZONI ET AL., 1994; PRUESSNER ET AL., 2003; BHAGWAGAR ET AL., 2005; FEKEDULEGN ET AL., 2007; TESHIMA ET AL., 2008). Bei Wiederholungsmessungen über einen bestimmten

Zeitraum liefert jeder Meßwert zwei Informationen: 1. den Abstand des Wertes von der Grundlinie und 2. seinen Abstand vom voraus- und nachfolgenden Meßwert. Bei der Verwendung der AUC werden beide Informationen erfasst. Die AUC ermöglicht generell einen Vergleich einer großen Datenmenge bei wiederholten Probennahmen ohne auf die hohe Anzahl der Ausgangsdaten zurückgreifen zu müssen, indem sie den Verlauf über der Zeit - bestehend aus mehreren Werten - zu einem Wert zusammenfaßt und damit die Auswertung vereinfacht (PRUESSNER ET AL., 2003; FEKEDULEGN ET AL., 2007). Durch die Verwendung der AUC reduziert sich die Anzahl der zu vergleichenden Werte auf die Anzahl der untersuchten Gruppen, die verglichen werden sollen. Zusätzlich bietet die AUC einen Vorteil bei Messungen, bei denen die Zeitabstände zwischen den Messungen nicht identisch sind, da die statistische Auswertung durch einen „repeated measures analysis of variance“ keine erprobte Methode aufweist, die beiden unterschiedlichen Informationen, die die AUC bietet, zu adjustieren.

Die Verwendung der AUC hat aber auch einen Nachteil: in unterschiedlichen Laboratorien werden unterschiedliche Berechnungsformeln herangezogen. Grundsätzlich finden zwei unterschiedliche Berechnungsformeln Anwendung. Die verwendeten Berechnungsformeln werden aber selten in den jeweiligen wissenschaftlichen Veröffentlichungen angegeben und es gibt nur eine sehr geringe Menge an Referenzliteratur. Die Konsequenz hieraus sind zum Teil kaum vergleichbare Ergebnisse. PRUESSNER ET AL. (2003) empfehlen deshalb bei der Analyse von Daten beide Berechnungsformeln zur Anwendung zu bringen.

3.2 Diskussion der Ergebnisse

3.2.1 Analyse der AUC

Bei der statistischen Analyse der AUC kann in der Generation F0a kein Effekt der Exposition auf die Größe der AUC nachgewiesen werden. Die statistische Auswertung nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ zeigt, dass auch das Körpergewicht zum Versuchszeitpunkt und die Interaktion zwischen Körpergewicht und Exposition keinen signifikanten Einfluss hatten.

In der Generation F0b zeigte die statistische Auswertung der Effekte von Exposition und Gruppe einen signifikanten Einfluss der Exposition ($p = 0,010$) auf die Variable AUC. Die erwartete Fläche der AUC der GSM-exponierten Tiere ist um 13512,5, die

der UMTS-exponierten Tiere um 5671,4 größer als die der SHAM-exponierten Tiere. Aus diesem Ergebnis lässt sich folgern, dass es bei den GSM- und UMTS-exponierten Tieren im Verlauf des ACTH-Testes zu einem deutlicheren Kortikosteronanstieg im Vergleich zur SHAM-Exposition kam. Der deutlichere Kortikosteronanstieg kommt aber auch dadurch zustande, dass die GSM- und UMTS-exponierten Tiere eine deutlich niedrigere Basalkonzentration aufwiesen als die SHAM-exponierten Tiere. Dies ist ein Indikator dafür, dass die GSM- und UMTS-Exposition bis zum Versuchsbeginn keine erhöhte Stress-Situation darstellte. Nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ ist kein signifikanter Einfluss der Exposition, der Gruppe, des Körpergewichtes zum Versuchszeitpunkt oder der Interaktion zwischen Exposition und Körpergewicht ($p = 0,111$) auf die Größe der AUC in dieser Generation nachzuweisen.

In der Generation F2 ergab die statistische Auswertung der Effekte von Exposition und Gruppe auf die Größe der AUC keinen signifikanten Unterschied zwischen den Expositionsarten. Nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ kann ein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,004$) und der Interaktion zwischen Exposition und Körpergewicht ($p = 0,005$) festgestellt werden, d.h. der Einfluss der Exposition ist je nach Körpergewicht unterschiedlich und auch bei den unterschiedlichen Expositionsarten verschieden. Für die GSM- und SHAM-Exposition bedeutet dies, dass mit steigendem Körpergewicht die Größe der AUC sinkt. Unter UMTS-Exposition hingegen steigt die Größe der AUC mit zunehmendem Körpergewicht.

Die Generationen F0b und F2 waren identisch lange exponiert. In Generation F0b war ein signifikanter Einfluss der Exposition nachzuweisen, der allerdings nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ verschwand. In der Generation F2 verhielt es sich genau umgekehrt: zunächst war kein Einfluss der Exposition festzustellen, erst nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ war ein signifikanter Einfluss der Exposition statistisch nachweisbar. Für die GSM- und SHAM-Exposition bedeutet dies, dass mit der Gewichtszunahme die Größe der AUC sinkt. Unter UMTS-Exposition hingegen steigt die Größe der AUC mit zunehmendem Gewicht. Im Moment ist daher aufgrund der – trotz identischer Expositionslänge – nicht reproduzierbaren Ergebnisse keine endgültige Aussage über den Einfluss elektromagnetischer Strahlung zu treffen. Bis zu einem reproduzierbaren Nachweis eines Einflusses elektromagnetischer Strahlung auf das Stressgeschehen ist es zur

Kenntnis zu nehmen, dass in der vorliegenden Untersuchung Hinweise für einen Einfluss gefunden werden konnten und weiterführende Untersuchungen auf diesem Gebiet werden angeraten.

In einer weiteren univarianten Varianzanalyse wurde zusätzlich der Einfluss der Exposition, der Gruppe, der Generation und der Interaktion zwischen Exposition und Generation auf die Größe der AUC statistisch ausgewertet. Hierbei ergab sich, dass die Exposition keinen signifikanten Einfluss hat. Bei der Generation kann ein signifikanter Einfluss ($p = 0,006$) auf die Größe der AUC nachgewiesen werden, d.h. dass der Expositionseffekt je nach Generation unterschiedlich ist: die Generation F0 – die am längsten exponierte Generation - hat bei allen Expositionsarten die kleinsten AUCs und damit also auch den kleinsten Kortikosteronanstieg im Vergleich zum Basalwert. Bei welcher Expositionsart die AUC in den beiden Generationen F0b und F2 jeweils am niedrigsten oder höchsten ist, ist von Generation zu Generation unterschiedlich. In der Generation F0b ist die erwartete AUC der GSM-exponierten Tiere am größten, der SHAM-exponierten Tiere am kleinsten. In der Generation F2 findet sich der höchste erwartete Wert für die Größe der AUC bei den SHAM-exponierten Tieren, der kleinste Wert bei den GSM-exponierten Tieren. Es ist also über den Verlauf der Generationen keine präzise Vorhersage möglich, bei welcher der Generationen unter einer bestimmten Exposition der höchste Wert der AUC auftreten wird. Es kann somit festgestellt werden, dass in der vorliegenden Untersuchung die AUCs Hinweise auf einen Einfluss der Generation festgestellt werden konnte, die aber trotz identischer Exposition der Generation F0b und F2 kein reproduzierbares Ergebnis lieferten. Aufgrund der Tatsache, dass die am längsten exponierte Generation F0a (Expositionsdauer: ein Jahr; F0b/F2: Expositionsdauer: ca. 5 Monate) die niedrigsten Werte der AUCs aufweist, ist im Moment davon auszugehen, dass die Exposition keinen Einfluss auf das Stressgeschehen hat.

3.2.2 Basalkonzentration

Statistisch ausgewertet wurde ein potentieller Einfluss der Variablen Expositionsart (GSM, UMTS, SHAM). Die Untersuchung dieser Zielgröße erfolgte, um einen Vergleich der Ausgangskonzentrationen durchführen zu können und um potentielle Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Expositionsarten feststellen zu können.

In der Generation F0a wurde die basale Kortikosteronkonzentration durch die Exposition nicht signifikant beeinflusst. In der Generation F0b konnte ein signifikanter Einfluss der Exposition ($p = 0,008$) auf die Basalkonzentration nachgewiesen werden. Die Basalkonzentrationen sowohl der GSM- als auch der UMTS-exponierten Tiere lagen signifikant niedriger als die Basalkonzentrationen der SHAM-Tiere. Die erwartete Basalkonzentration der GSM-exponierten Tiere lag um 101,9 ng/ml, die der UMTS-exponierten Tiere um 124,3 ng/ml niedriger als die der SHAM-exponierten Tiere. Dies bedeutet, dass zum Zeitpunkt t0 kein Einfluss der Exposition auf die Basalkonzentration nachgewiesen werden kann beziehungsweise, dass sogar die nicht-exponierten Tiere die höchsten Basalkonzentrationen aufwiesen.

In der Generation F2, die eine zu F0b identische lange Exposition (ca. 5 Monate) durchlaufen hatte, konnte im Gegensatz zu F0b, kein signifikanter Einfluss der Exposition auf die Basalkonzentration nachgewiesen werden.

In der Literatur liegen unterschiedliche Referenzwerte für Basalkonzentration des Kortikosterons vor (LEAL ET AL., 1995; VAHL ET AL., 2005). Die in den vorliegenden Untersuchungen gemittelten Basalwerte der verschiedenen Untersuchungsgruppen lagen deutlich höher als die in der Literatur angegebenen Werte. Die Mittelwerte der Basalwerte variierten von minimal 398,8 bis maximal 660,1 ng/ml. Grundsätzlich ist es von Bedeutung, dass bei der vorliegenden Untersuchung zusätzlich eine Kontrollgruppe untersucht wurde, die unter gleichen Bedingungen, aber ohne Einwirkung eines exogenen Stressors, gehalten wurde. Die Werte dieser Kontrollgruppe sind als versuchsinterne Referenzwerte zu betrachten, weshalb auch beide Expositionsarten bei der statistischen Auswertung immer gegen diese Kontrollgruppe untersucht wurden. Aufgrund des Vorhandenseins dieser Referenzwerte ist ein Abweichen von den in der Literatur angegebenen Werten als vernachlässigbar einzustufen.

Die unterschiedlichen Basalkonzentrationen in den einzelnen Generationen einer Expositionsart wurden deskriptiv ausgewertet. Bei weiterführenden Untersuchungen wäre interessant, ob innerhalb einer Expositionsart zwischen den Generationen eine Veränderung der Basalkonzentration des Kortikosterons auftritt, da bei den Generationen F0 und F2 bis zur Probenentnahme eine unterschiedlich lange pränatale Exposition erfolgte bzw. unterschiedlich viele Vorfahrgenerationen ebenfalls exponiert waren.

3.2.3 Blutentnahmedauer

Statistisch analysiert wurde ein potentieller Einfluss der Blutentnahmedauer auf die Basalkonzentration der einzelnen Generationen. Diese Untersuchung wurde durchgeführt, um die Blutentnahmedauer als potentiellen exogenen Stressor auszuschließen. Die Blutentnahmedauer zu den übrigen Blutentnahmezeitpunkten wurde mittels deskriptiver Statistik ausgewertet.

In der Generation F0a kann unter Berücksichtigung der Blutentnahmedauer kein signifikanter Einfluss der Exposition oder der Blutentnahmedauer auf die Basalkonzentration des Kortikosterons nachgewiesen werden.

In der Generation F0b hingegen kann unter Berücksichtigung der Blutentnahmedauer statistisch ein signifikanter Einfluss der Expositionsart ($p = 0,017$) festgestellt werden, der bereits bei der Betrachtung des alleinigen Einflusses der Variablen „Expositionsart“ auf die Basalkonzentration ermittelt werden konnte. Ein signifikanter Einfluss der Blutentnahmedauer kann hingegen nicht nachgewiesen werden.

In der Generation F2 kann kein Einfluss der Exposition oder der Blutentnahmedauer auf die untersuchte Variable „Basalkonzentration“ nachgewiesen werden. Es kann allerdings in der Generation F2 – wie bereits bei der statistischen Auswertung der Basalkonzentration - ein signifikanter Einfluss der Gruppe ($p < 0,001$) auf die Variable „Basalkonzentration“ nachgewiesen werden. Die erwarteten Basalkonzentrationen der Tiere der Gruppe 1 liegen mit 121,0 ng/ml signifikant niedriger als die Basalkonzentrationen der Gruppe 2. Der Einfluss der Gruppe lässt sich aus versuchstechnischer Sicht nicht nachvollziehen, da alle Gruppen unter identischen Bedingungen gehalten wurden.

Die Ergebnisse zeigen also, dass in keiner der Versuchsgruppen die Dauer der Blutentnahme – anders als in der Literatur angegeben (Gärtner et al., 1980; VAHL ET AL, 2005; LEPSCHY ET AL., 2007) - einen statistisch nachweisbaren Effekt auf die basale Kortikosteronkonzentration hat. Mit diesen Ergebnissen wird die Blutentnahme aus den Schwanzvenen als geeignete Methode bestätigt.

Die Dauer der Blutentnahme zu den übrigen Versuchszeitpunkten (t15, t45, t60, t90 und t120) wurde deskriptiv ausgewertet, ebenso der Vergleich der Blutentnahmedauer innerhalb einer Generation unter unterschiedlicher Exposition. Eine statistische Auswertung der Entnahmezeitpunkte zu den übrigen

Versuchszeitpunkten erfolgte nicht. Diese Auswertung wurde als nicht sinnvoll erachtet, da es mit fortschreitender Narkoselänge und zunehmendem Blutverlust immer schwieriger wird, herauszufinden, welcher Faktor (Blutentnahme, Blutentnahmedauer, Blutverlust, Narkoseeinfluss, Exposition etc.) den bedeutendsten Einfluss hat und die Stressfaktoren nicht mehr isoliert betrachtet werden können.

Die Ergebnisse des vorliegenden Versuches haben die Entnahmetechnik als solche bestätigt, da zum Zeitpunkt t_0 kein Einfluss der Entnahmedauer auf den Kortikosteronwert festgestellt werden konnte. Da es in der Literatur dennoch Hinweise gibt, dass eine zu lange Blutentnahmedauer Untersuchungsergebnisse verändern kann (Gärtner et al., 1980; VAHL ET AL, 2005; LEPSCHY ET AL., 2007) und im Versuchsablauf des vorliegenden Experimentes bei der Entnahme aus der Schwanzvenen zum Teil längere Entnahmezeiten auftraten, wäre für nachfolgende Untersuchungen zu überlegen, ob die Anwendung von Dauerkatheter oder fixierte Butterfly-Kanülen praktikabler wäre.

3.2.4 Analyse der Differenz der Kortikosteronkonzentration zwischen Maximal- und Basalwert

Statistisch ausgewertet wurde die Differenz zwischen der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t_{Max} und der Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t_0 . Die Durchführung dieser Analyse erfolgte, um den Anstieg der Kortikosteronkonzentration nach ACTH-Applikation besser beurteilen zu können.

Die statistische Auswertung des Effektes von Exposition und Gruppe auf Diff_Cort_Max_Basal ergab keinen signifikanten Einfluss der Expositionsart. Aber es bestand in der Generation F0a ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,031$). Der erwartete absolute Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist bei den Tieren der Gruppe 1 um 69,0 ng/ml höher als bei Gruppe 2. Ein Einfluss der Gruppe ist aus versuchstechnischer Sicht nicht zu erklären, da die Gruppen unter völlig identischen Bedingungen gehalten und untersucht wurden.

In der Generation F0b ergab die statistische Auswertung des Effektes von Exposition und Gruppe auf Diff_Cort_Max_Basal sowohl einen signifikanten Einfluss der Expositionsart ($p = 0,012$) als auch der Gruppe ($p = 0,026$). Der erwartete Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist bei den GSM-exponierten Tieren um 100,5 ng/ml höher als

bei den SHAM-exponierten Tieren. In der Generation F0b war auch ein signifikanter Einfluss der Exposition auf die Basalkonzentration nachweisbar und die Basalkonzentrationen der exponierten Tiere waren niedriger als unter SHAM-Exposition. Daraus folgt, dass bei entsprechend niedrigem Basalwert auch der Wert von Diff_Cort_Max_Basal größer sein muss. Der erwartete Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist in der Generation F0b bei der Gruppe 1 um 67,9 ng/ml höher als bei Gruppe 2. Ein Einfluss der Gruppe ist auch in dieser Generation aus versuchstechnischer Sicht nicht zu erklären, da die Gruppen ebenfalls unter völlig identischen Bedingungen gehalten und untersucht wurden.

In der Generation F2 zeigte die statistische Auswertung des Effektes von Exposition und Gruppe auf Diff_Cort_Max_Basal einen signifikanten Einfluss der Gruppe ($p = 0,044$). Der erwartete Wert von Diff_Cort_Max_Basal ist bei den Tieren der Gruppe 1 um 83,3 ng/ml niedriger als bei den Tieren der Gruppe 2. Ein signifikanter Einfluss der Expositionsart konnte in dieser Generation nicht nachgewiesen werden.

3.2.5 Deskriptive Analyse der Zeitpunkte der Maximalkonzentration

Es wurde in allen untersuchten Generationen und Gruppen eine deskriptive Analyse der Zeitpunkte, an denen im zeitlichen Verlauf die Maximalkonzentrationen auftraten, durchgeführt.

Betrachtet man alle Generationen zusammen erreichten 0,7 % der Tiere die maximale Kortikosteronkonzentration zum Zeitpunkt t0, 2,7 % zum Zeitpunkt t15, 6,5 % zum Zeitpunkt t30, 9,2 % zum Zeitpunkt t45, 18,5 % zum Zeitpunkt t60, 27,7 % zum Zeitpunkt t90 und 34,6 % zum Zeitpunkt t120. Insgesamt erreichten 62,3 % aller untersuchten Tiere die maximale Kortikosteronkonzentration frühestens zum Zeitpunkt t90.

Da die Halbwertszeit des Kortikosterons im Blut in der Literatur mit ungefähr 60 Minuten angegeben wird (HAEMISCH ET AL., 1999), im vorliegenden Versuch die Maximalkonzentrationen aber bei über 50 % der Tiere in allen untersuchten Gruppen nicht vor dem Zeitpunkt t90 auftreten, erscheint es sinnvoll, in weitergehenden Untersuchungen in jedem Fall weiter Blutproben nach t120 zu entnehmen bis ein eindeutiger Abfall des Kortikosterons ermittelt werden kann.

Eine Untersuchung eines potentieller Zusammenhanges zwischen dem Zeitpunkt der maximalen Kortikosteronkonzentration und der Exposition und eines eventueller

Zusammenhangs zwischen den Generationen einer Exposition und dem Auftreten der Maximalkonzentrationen wurde aufgrund der Tatsache, dass bei zu vielen gleichzeitig betrachteten Parametern statistische Fehler auftreten können und weniger Informationen zu erhalten sind als bei der alleinigen Betrachtung einer geringeren Parameteranzahl, als statistisch nicht sinnvoll eingestuft.

3.3 Gesamtdiskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es durch die Durchführung eines Langzeitversuches an Ratten bestehende Lücken im Wissen um Langzeiteffekte durch elektromagnetische Strahlung – im Speziellen auf das Stressgeschehen – zu schließen und die für elektromagnetische Strahlung bestehenden Grenzwerte zu bestätigen oder Anregungen für Änderungen zu geben.

Im Bezug auf die Tierwahl kann die Ratte als geeignetes Versuchstier angesehen werden. Durch die Wahl der Ratte als Versuchstier wurde eine Untersuchung über mehrere Generationen in einer überschaubaren Zeitspanne ermöglicht und an einer hohen Anzahl von Tieren. Bei der Beurteilung des Versuchstieres Ratte ist dennoch zu bedenken, dass der Ratte eine bemerkenswerte Anpassungsfähigkeit (WEISS ET AL., 2003) zugesprochen wird, die zur Konsequenz haben könnte, dass in Langzeitversuchen eventuelle Effekte aufgrund einer bereits stattgefundenen Adaptation nicht mehr nachgewiesen werden können.

Durch die Haltung unter Standardbedingungen und durch die Ad-Libitum-Wasserversorgung und –Fütterung ist ein Einfluss der Haltungsbedingungen oder Fütterung auf das Stressgeschehen der Versuchstiere weitgehend auszuschließen.

Die Haltung von Versuchstieren ist immer mit einem gewissen Maß an notwendigem Handling und mit Routinemaßnahmen verbunden, die sich in der Veränderung biologischer Parameter bemerkbar machen können. Durch gezieltes Gewöhnen der Tiere an experimentelle Abläufe kann die im Experiment anfallende Stressbelastung, die zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen könnte, erheblich reduziert werden (WEISS ET AL., 2003). Im Hauptversuch erfolgte die Gewöhnung der Tiere an die experimentellen Abläufe aufgrund der hohen Tierzahl nicht durch gezieltes Handling, sondern lediglich durch das routinemäßige Handling im Rahmen der Tierpflege. Durch die lange Expositionszeit bis zu den ersten Blutentnahmen ist aber durchaus von einer Gewöhnung an den Vorgang des Umsetzens und an neue Umgebungen

auszugehen. Im Gegensatz zum Vorversuch erfolgten auch alle Blutentnahmen unter Inhalationsanästhesie, so dass eine Gewöhnung der Tiere an die der Blutentnahme nicht als zwingend notwendig angesehen wurde.

Das Glukokortikosteroid Kortikosteron wurde zur Beurteilung des Stressgeschehens herangezogen. Der Parameter wurde auch in der Literatur häufig als Parameter zur Beschreibung des Stressgeschehens bei der Ratte verwendet (GÄRTNER ET AL., 1980; DE BOER ET AL., 1990; MÖSTL, 2000; PIHL UND HAU, 2003; RETANA-MÁRQUEZ ET AL., 2003; RAFF ET AL., 2004; LEPSCHY ET AL., 2007) und kann daher als geeigneter Parameter betrachtet werden. Zusätzlich erfolgte eine Einschätzung der Stress-Situation der Tiere durch tägliche klinische Beurteilung, durch regelmäßige Gewichtskontrolle und durch die Beobachtung des Verhaltens.

In der Literatur wird bei der Ratte als Probenmaterial zur Kortikosteronbestimmung Blut, Urin und Kot angeführt. Im vorliegenden Versuch wurde zur Bestimmung der Kortikosteronkonzentration Blut als Medium gewählt, da hierbei im Gegensatz zu Kotproben individuelle Unterschiede ermittelt werden können und die auftretenden Maximalkonzentrationen zeitlich präziser eingegrenzt werden können. Die Blutgewinnung ist im Gegensatz zur Gewinnung von Urinproben bei Ratten mit einem geringeren apparativen Aufwand möglich und deshalb leichter und kostengünstiger durchzuführen.

Die Wahl der mehrfachen Punktion der Schwanzvene zur Gewinnung der Blutproben basiert auf Angaben in der Literatur, die diese Methode zur Durchführung wiederholter Blutentnahmen in kurzen Zeitabständen empfehlen. Die Entnahmetechnik als solche wurde im vorliegenden Versuch dadurch bestätigt, dass zum Zeitpunkt t_0 kein Einfluss der Entnahmedauer auf den Kortikosteronwert festgestellt werden konnte. Allerdings gibt es in der Literatur Hinweise, dass eine zu lange Blutentnahmedauer Untersuchungsergebnisse verändern kann (Gärtner et al., 1980; VAHL ET AL., 2005; LEPSCHY ET AL., 2007).

Durch die Vorversuche konnte ermittelt werden, dass eine Narkose per se keinen Einfluss auf die Kortikosteronkonzentration hat und auch in der Literatur finden sich Angaben, die dieses Ergebnis bestätigen (DECKARDT ET AL., 2007). Verschiedene Autoren konnten zudem anhand ihrer Untersuchungen belegen, dass Isofluran bei der Auswahl des Anästhetikums die bessere Wahl ist, im Vergleich zu anderen Anästhetika (ALTHOLTZ ET AL., 2006; GONZÁLEZ-GIL ET AL., 2006; FITZNER ET AL., 2006).

Die Ergebnisse des Vorversuches zeigten in allen Versuchsgruppen nach ACTH-Applikation einen signifikanter Anstieg der Kortikosteronkonzentration. Demzufolge wurde die intraperitoneal ACTH-Injektion korrekt durchgeführt und die gewählte Dosierung von 100 µg/kg Körpergewicht ermöglicht eine ausreichende Stimulation der Nebenniere. Die Methode des ACTH-Testes ist somit zur Überprüfung der Funktion der Nebenniere geeignet.

Die Festlegung des Entnahmezeitpunktes auf die Morgenstunden und das Einhalten der gleichen Uhrzeit für die Blutprobenentnahme an allen Versuchstagen (KRAFT, 2005) ist als sinnvoll zu erachten, da damit ein Einfluss der zirkadianen ACTH- und Kortikosteroid-Sekretion auf die Untersuchungsergebnisse vermieden und eine optimale Reaktion des Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierensystems gewährleistet werden konnte.

In der Generation F0b konnte ein signifikanter Einfluss der Exposition auf die basale Kortikosteronkonzentration und die Größe der AUC nachgewiesen werden: die Basalwerte der GSM- und UMTS-exponierten Tiere liegen jeweils signifikant niedriger als bei den Tieren der SHAM-Gruppe und die Fläche der AUC der GSM- und UMTS-exponierten Tiere ist jeweils signifikant größer als die der SHAM-exponierten Tiere. Aus diesem Ergebnis lässt sich folgern, dass es bei den GSM- und UMTS-exponierten Tieren, deren basaler Kortikosteronspiegel signifikant niedriger war, im Verlauf des ACTH-Testes zu einem deutlicheren Kortikosteronanstieg im Vergleich zur SHAM-Exposition kam. Die niedrige Basalkonzentration der GSM- und UMTS-exponierten Tiere ist aber auch ein deutlicher Indikator dafür, dass die GSM- und UMTS-Exposition bis zum Versuchsbeginn keine erhöhte Stress-Situation darstellte. Dies resultiert in der Summe in einer signifikant größeren AUC bei den GSM- und UMTS-exponierten Tieren.

Der in der Generation F0b festgestellte Einfluss der Exposition auf die Basalkonzentration und Größe der AUC konnte aber in der identisch-lange exponierten Generation F2 nicht reproduziert werden. Dagegen war in der Generation F2 nach Hinzunehmen der Einflussgröße „Gewicht“ ein signifikanter Einfluss der Exposition und der Interaktion zwischen Exposition und Körpergewicht festgestellt werden, was bedeutet, dass der Einfluss der Exposition je nach Körpergewicht unterschiedlich ist. Für die GSM- und SHAM-Exposition bedeutet dies, dass mit der Gewichtszunahme die Größe der AUC sinkt. Unter UMTS-Exposition

hingegen steigt die Größe der AUC mit zunehmendem Gewicht. Im Moment ist daher aufgrund der – trotz identischer Expositionslänge - nicht reproduzierbaren Ergebnisse keine endgültige Aussage über den Einfluss elektromagnetischer Strahlung zu treffen. Bis zu einem reproduzierbaren Nachweis eines Einflusses elektromagnetischen Strahlung auf das Stressgeschehen ist es zur Kenntnis zu nehmen, dass in der vorliegenden Untersuchung Hinweise für einen Einfluss gefunden werden konnten und weiterführende Untersuchungen auf diesem Gebiet werden angeraten.

Die dargestellten Ergebnisse lassen daher insgesamt den Schluss zu, dass chronisch applizierte magnetische Felder vom Typ GSM und UMTS bei der Ratte keine reproduzierbare Dauerstress-ähnliche Belastung darstellen, es aber dennoch weiterer Forschung auf diesem Gebiet bedarf.

Die im Moment geltenden Grenzwerte begegnen nach derzeitigem Wissensstand keinen grundlegenden Bedenken. Ein Einfluss elektromagnetischer Strahlung auf das Stressgeschehen kann dennoch nicht generell ausgeschlossen werden. Deshalb sollten ergänzende und gegebenenfalls abgeänderte Versuche zur Überprüfung und Bestätigung der vorliegenden Ergebnisse in Betracht gezogen werden.

3.4 Schlussfolgerungen

Aus der vorliegenden Untersuchung sind für zukünftige Forschungsprojekte einige Schlussfolgerungen zu ziehen.

Für weiterführende Studien ist das Versuchstier Ratte gegebenenfalls zu überdenken, da sich aus der der Ratte zuerkannten Anpassungsfähigkeit (WEISS ET AL., 2003) für Langzeitversuche unvorhersehbare Probleme ergeben können. Da es bei menschlichen Probanden oder größeren Versuchstieren auch in Zukunft nicht möglich sein wird, eine gleichmäßige 24-Stunden-Exposition an einer hohen Anzahl an Probanden im Langzeitversuch zu erreichen, könnten sich weniger anpassungsfähige kleine Versuchstiere (z.B. Hamster, Meerschweinchen) als für den Versuch besser geeignet erweisen.

Da in der Literatur angegeben wird, dass durch gezieltes Gewöhnen der Tiere an bestimmte experimentelle Abläufe und an die unterschiedlichen Untersuchungs-räume die im Experiment anfallende Stressbelastung, die zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen könnte, erheblich reduziert werden kann (WEISS ET AL., 2003), ist

zu überlegen, bei weiterführenden Untersuchungen dem Versuch ein gezieltes Handling der Versuchstiere voranzustellen.

Bei weiteren Untersuchungen zum Stressgeschehen bei der Ratte wäre zu empfehlen, zusätzlich zu Kortikosteron und zusätzlich zu der allgemeinen klinischen Beurteilung noch weitere Parameter des Stressgeschehens zu bestimmen. Biologische Parameter, die in Betracht zu ziehen sind, wären: Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin), β -Endorphine, Oxytocin, Prolactin und Renin, Lymphozyten, ACTH, Glucose und IgA. Zusätzlich könnte die Beobachtung des Verhaltens der Versuchstiere zur weiteren Beurteilung des Stressgeschehens und des Wohlbefindens der Tiere herangezogen werden.

Die Blutentnahmetechnik und Blutentnahmedauer hatte im vorliegenden Versuch keinen Effekt auf die Kortikosteronkonzentration. Da es aber in der Literatur Hinweise dafür gibt, dass eine zu lange Blutentnahmedauer Untersuchungsergebnisse verändern kann (Gärtner et al., 1980; VAHL ET AL, 2005; LEPSCHY ET AL., 2007) und im Versuchsablauf des vorliegenden Experimentes bei der Entnahme aus der Schwanzvenen gelegentlich deutlich längere Entnahmezeiten auftraten, wäre für nachfolgende Untersuchungen zu überlegen, ob eine Anwendung von Dauerkathetern oder fixierten Butterfly-Kanülen versuchsdienlicher wäre.

Da die Gewinnung von Kotproben durch einfaches Aufsammeln aus den Versuchskäfigen oder durch Stoffwechselkäfige möglich wäre, wodurch die Notwendigkeit der Manipulation der Versuchstiere zur Probengewinnung entfällt, könnten in weiteren Untersuchungen Kotproben als zusätzliches Untersuchungsmaterial verwendet werden. Zudem könnte über Kotproben das Stressgeschehen über einen längeren Zeitraum und nicht über einen sehr begrenzten Zeitraum – wie bei der Blutentnahme – erfolgen. Allerdings ist bei der Bestimmung der Kortikosteroidmetaboliten aus dem Kot in der Regel keine Untersuchung individueller Unterschiede möglich. Auch die Durchführung eines ACTH-Testes ist schwierig, da aufgrund der Tatsache, dass der Kotabsatz schwer zu beeinflussen ist, die Kortikosteronmetaboliten im Kot nicht zu genau festgelegten Zeitpunkten bestimmt werden können.

Da die Anwendung der AUC bei der statistischen Analyse den Nachteil hat, dass in unterschiedlichen Laboratorien unterschiedlichen Berechnungsformeln zur Berechnung der AUC herangezogen werden (AUC_G und AUC_I) und sich hieraus Schwierigkeiten beim Vergleich von Ergebnissen ergeben können, sollten bei

Folgenuntersuchungen bei der Analyse von Daten beide Berechnungsformeln zur Anwendung gebracht werden.

Die Ergebnisse des Hauptversuches zeigten, dass insgesamt 62,3 % aller untersuchten Tiere die maximale Kortikosteronkonzentration frühestens zum Zeitpunkt t90 erreichten. Für weiterführende Untersuchungen wäre daher anzuraten, nach t120 weitere Blutproben zu entnehmen bis ein eindeutiger Abfall des Kortikosterons ermittelt werden kann. Statistisch sollte jeweils der vorletzte und der letzte Kortikosteronwert gegeneinander getestet werden, um feststellen zu können, ob es zu einem signifikanten Abfall des Wertes kommt.

VI. Zusammenfassung

Langzeituntersuchungen zum potentiellen Einfluss elektromagnetischer Strahlung (GSM, UMTS) auf das Stressgeschehen der Ratte

Die Anzahl der Personen, die Mobilfunkgeräte nutzen, ist in den letzten Jahren stark angestiegen, und damit auch das öffentliche Interesse an potentiellen gesundheitsschädlichen Risiken durch die elektromagnetischen Felder des Mobilfunks. Daher war das Ziel dieser Arbeit, bestehende Lücken im Wissen um Langzeitwirkungen durch elektromagnetische Felder, die von Mobilfunkgeräten erzeugt werden, zu ergänzen und bestehende Grenzwerte für die Exposition mit elektromagnetischer Strahlung zu bestätigen oder Anregungen für Änderungen zu geben. Hierzu wurde im Auftrag des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit und des Bundesamtes für Strahlenschutz das Tierversuchsvorhaben „In vivo-Langzeituntersuchungen des Einflusses elektromagnetischer Felder der Mobilfunkkommunikation im Rattenmodell“ durchgeführt. Das Versuchsprojekt umfasste unterschiedliche Arbeitsgruppen (Untersuchungen zur Funktion des Immunsystems, zur Stressbelastung, zur kognitiven Leistung und zur Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke), die Untersuchungen an Ratten durchführten, die sich täglich 24 Stunden unter elektromagnetischer Exposition befanden.

Als zu untersuchender Stress-Parameter wurde das Glukokortikosteroid Kortikosteron festgelegt. Das Kortikosteron ist bei der Ratte das entscheidende Glukokortikosteroid und gibt Aufschlüsse über das Stressgeschehen dieser Tiere.

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 294 weiblichen Albino-Ratten vom Stamm WISTAR, RjHAN als Doppelblindstudie durchgeführt. Die Tiere gehörten zwei unterschiedlichen Generationen an (F0, F2), die aus versuchstechnischen Gründen noch in Untergruppen unterteilt wurden. Die Versuchstiere wurden unter standardisierten Haltungsbedingungen in drei vollklimatisierten Hochfrequenz-Expositionskammern für GSM- (Global System for Mobile Communications, 900 MHz), UMTS- (Universal Mobile Telecommunications System, 1966 MHz) und Scheinexposition (SHAM) gehalten und befanden sich 24 Stunden pro Tag unter elektromagnetischer Dauerexposition mit einer beim Menschen vergleichbaren SAR (Specific Absorption Rate) von 0,4 W/kg. Die unterschiedlichen Generationen

unterschieden sich zum Zeitpunkt der Untersuchungen in der Expositionsdauer (maximale Expositionsdauer: 1 Jahr) und im Alter der Tiere.

Jedes Versuchstier wurde zur Bestimmung der Nebennierentätigkeit und zur Beurteilung der individuellen Stress-Situation einem ACTH-Test mit nachfolgender Blutentnahmeserie unterzogen. Das ACTH erfüllte im Versuch die Funktion eines exogenen Stressors. Es erfolgten pro Tier sieben Blutprobenentnahmen. Die erste Blutentnahme erfolgte zum Zeitpunkt t0. Anschließend wurde um 9.00 Uhr MEZ eine intraperitoneale ACTH-Injektion (Synacthen®) durchgeführt (Dosierung: 100 µg/kg Körpergewicht). Die weiteren Entnahmen erfolgten 15 (t15), 30 (t30), 45 (t45), 60 (t60), 90 (t90) und 120 (t120) Minuten nach ACTH-Injektion. Die Kortikosteronkonzentration wurde mittels eines indirekten kompetitiven ELISAs (Active® Rat Corticosterone EIA, DSL-10-81100, Diagnostic Systems Laboratories, USA) gemäß den Herstellerangaben bestimmt.

Die vorliegende Untersuchung liefert in der Generation F0b Hinweise darauf, dass es bei den GSM- und UMTS-exponierten Tieren im Verlauf des ACTH-Testes zu einem deutlicheren Kortikosteronanstieg im Vergleich zur SHAM-Exposition kam. Dieser vermehrte Anstieg resultiert zum Teil aber auch aus der Tatsache, dass die Basalkonzentrationen der GSM- und UMTS-exponierten Tiere signifikant niedriger waren, was ein deutlicher Indikator dafür zu sehen ist, dass die GSM- und UMTS-Exposition bis zum Versuchsbeginn keine erhöhte Stress-Situation darstellte. Der in der Generation F0b festgestellte Einfluss konnte in der identisch-lange exponierten Generation F2 nicht reproduziert werden.

Die dargestellten Ergebnisse lassen daher insgesamt den Schluss zu, dass die im Moment geltenden Grenzwerte nach derzeitigem Wissensstand keinen grundlegenden Bedenken begegnen und chronisch applizierte magnetische Felder vom Typ GSM und UMTS bei der Ratte keine reproduzierbare Dauerstress-ähnliche Belastung darstellen. Ein Einfluss elektromagnetischer Strahlung auf das Stressgeschehen kann dennoch nicht generell ausgeschlossen werden, weshalb ergänzende und gegebenenfalls abgeänderte Versuche zur Überprüfung und Bestätigung der vorliegenden Ergebnisse in Betracht gezogen werden sollten.

VII. Summary

Influence of long term exposure to high frequency electromagnetic fields (GSM, UMTS) on the stress system of rats

The number of people using mobile phones has increased rapidly in the last few years and with the number of users also rose the public interest in potential dangers that might be caused by electromagnetic-fields produced by mobile phones. Therefore, the main subject of the present study was to examine potential effects of high frequency electromagnetic fields used in telecommunication systems on the stress system of rats and to review the existing basic restrictions. The study was carried out on the authority of the "Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit" and the "Bundesamt für Strahlenschutz".

The study was conducted on 294 WISTAR, RjHAN female albino rats and the examination protocol was in double-blind design. The rats belonged to two different generations (F0, F2). Each generation was randomly divided into two groups due to technical reasons. The rats were housed under standard conditions in air-conditioned high frequency exposition chambers for GSM- (900 MHz), UMTS- (1966 MHz) and pseudo-exposition (SHAM) and were exposed to the different electromagnetic fields for 24 hours a day with a specific absorption rate (SAR) of 0.4 W/kg. The generations and groups differed in the age of the animals at the time of the experiment (F0b und F2 at the age of 19 and 20 weeks, F0a at the age of 52 weeks) and in the length of exposure (maximum length of exposition: 1 year).

The parameter used to verify the stress reaction of the rats was corticosterone, the main glucocorticosteroid in rats and mice. The different corticosterone levels in the different experimental groups were compared by the AUC (Area under the curve). The AUC was defined as an area determined by the curve progression of the corticosteron concentration and a parallel to the x-axis through the intersection of the y-axis (concentration of serum corticosterone at time t0).

To survey the function of the adrenal gland blood was taken of all animals at seven times. The first blood sample was taken at time t0. After the first blood sampling synthetic ACTH (Synacthen®) was applied to each rat intraperitoneal at 9.00 o'clock central European time with a dosage of 100 µg/kg body-weight. ACTH was used as a standardized exogenous stressor. The following samples took place 15 (t15), 30

(t30), 45 (t45), 60 (t60), 90 (t90) and 120 (t120) minutes after the ACTH application. The centrifugation and further processing of the samples were done 30 to 45 minutes after the last sampling (t120).

The samples were stored at -20 °C until being analyzed. The corticosterone was measured by an indirect competitive ELISA system (Active® Rat Corticosterone EIA, DSL-10-81100, Diagnostic Systems Laboratories, USA).

In group F0b a significant influence on the basal concentration of corticosterone and on the AUC was found depending on the kind of exposure. This influence could not be reproduced in the identically exposed group F2.

The results in total indicated that the exposure with GSM and UMTS does not alter stress parameters in rats but are not able to exclude effect completely.

VIII. Literaturverzeichnis

Agarwal, M, Mirshahi, M (1999). General overview of mineralcorticoid hormone action. *Pharmacol Ther* 84: 273-326.

Alfageme, S, Schelkshorn, S, Detlefsen, J (2004). In Vivo-Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Felder der Mobilkommunikation. http://www.emf-forschungsprogramm.de/forschung/biologie/biologie_verg/bio_050_ZwB_02.pdf. (Datum des Zugriffs: 17. Dezember 2006).

Altholtz, L, Fowler, K, Badura, L, Kovacs, M (2006). Comparison of the stress response in rats to repeated isoflurane or CO₂:O₂ anesthesia used for restraint during serial blood collection via the jugular vein. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 45: 17-22.

Amirat, Z, Khammar, F, Brudieux, R (1980). Seasonal changes in plasma and adrenal concentrations of cortisol, corticosterone, aldosterone, and electrolytes in the adult male sand rat (*Psammomy obesus*). *Gen Comp Endocrinol* 40: 36-43.

Atkinson, H, Waddell, B (1997). Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. *Endocrinology* 138: 3842-3848.

Bamberg, E (1987). Endokrinium. In: Scheunert, A, Trautmann, A, Wittke, G (Hrsg.). *Lehrbuch der Veterinärphysiologie*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 438-478. ISBN 3-489-66216-4.

Bamberg, E, Palme, R, Meingassner, G (2001). Excretion of corticosteroid metabolites in urine and faeces of rats. *Lab Anim* 35: 307-314.

Baxter, J (1994). General concepts of endocrinology. In: Greenspan, F, Baxter, J (Hrsg.). *Basic & Clinical Endocrinology*. Appelton & Lange, Connecticut, USA, 1-63. ISBN 0-8385-0646-1.

Bayerisches Staatsministerium für Gesundheit, Ernährung und Verbraucherschutz (2003). Elektromagnetische Felder. [http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000003?SID=1031419586&ACTIONxSESSxSHOWPIC\(BILDxKEY:stmugv_mf_00005,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF\)=X](http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000003?SID=1031419586&ACTIONxSESSxSHOWPIC(BILDxKEY:stmugv_mf_00005,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF)=X). (Datum des Zugriffs: 17. Dezember 2006).

Bayerisches Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen (2002). Fachinformation Elektromagnetische Felder. [http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000007?SID=1645494216&ACTIONxSESSxSHOWPIC\(BILDxKEY:stmugv_mf_00003,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF\)=X](http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000007?SID=1645494216&ACTIONxSESSxSHOWPIC(BILDxKEY:stmugv_mf_00003,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF)=X). (Datum des Zugriffs: 17. Dezember 2006).

Bayerisches Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (2006). Die neue Mobilfunkgeneration UMTS. [http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000002?SID=1963256433&ACTIONxSESSxSHOWPIC\(BILDxKEY:stmugv_mf_00010,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF\)=X](http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000002?SID=1963256433&ACTIONxSESSxSHOWPIC(BILDxKEY:stmugv_mf_00010,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF)=X). (Datum des Zugriffs: 21. Januar 2007).

Bayerisches Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (2007). Mobilfunk. [http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000003?SID=863149540&ACTIONxSESSxSHOWPIC\(BILDxKEY:stmugv_mf_00011,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF\)=X](http://www.bestellen.bayern.de/application/stmugv_app000003?SID=863149540&ACTIONxSESSxSHOWPIC(BILDxKEY:stmugv_mf_00011,BILDxCLASS:Artikel,BILDxTYPE:PDF)=X). (Datum der Zugriffs: 30. Juni 2007).

Bernatzky, G (1997). Schmerz bei Tieren. In: Sambraus, H, Steiger, A (Hrsg.). Das Buch vom Tierschutz. Enke Verlag, Stuttgart, 40-56. ISBN 3-432-29431-X.

Bhagwagar, Z, Hafizin, S, Cowen, P (2005). Increased salivary cortisol after waking in depression. *Psychopharmacology* 182: 54-57.

Bibliographisches Institut AG (1979a). Ionisation. In: Meyers Enzyklopädisches Lexikon, Band 12. Bibliographisches Institut AG, Mannheim, Wien, Zürich.

Bibliographisches Institut AG (1979b). Strahlung. In: Meyers Enzyklopädisches Lexikon, Band 22. Bibliographisches Institut AG, Mannheim, Wien, Zürich.

Biglieri, E, Kater, C, Ramsay, D (1994). Endocrine Hypertension. In: Greenspan, F, Baxter, J (Hrsg.). Basic & Clinical Endocrinology. Appelton & Lange, Connecticut, USA, 347-369. ISBN 0-8385-0646-1.

Breuer, H (1996). dtv-Atlas zur Physik Band 2: Elektrizität, Magnetismus, Festkörper, Moderne Physik. Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH & Co. KG, München. ISBN 3-423-03227-8.

Bundesamt für Strahlenschutz (2006a). Arbeitsschutz. <http://www.bfs.de/elektro/hff/arbeitsschutz.html/printversion>. (Datum des Zugriffs: 18. Dezember 2006).

Bundesamt für Strahlenschutz (2006b). Rechtliche Grundlage, Grenzwerte und Vorsorge. <http://www.bfs.de/elektro/hff/grenzwerte.html/printversion>. (Datum des Zugriffs: 18. Dezember 2006).

Bundesamt für Strahlenschutz (2006c). Grundlagen, Begriffsbestimmungen. <http://www.bfs.de/elektro/hff/grundlagen.html>. (Datum des Zugriffs: 18. Dezember 2006).

Bundesamt für Strahlenschutz (2006d). Biologische und gesundheitliche Wirkungen von hochfrequenten elektromagnetischen Feldern. <http://www.bfs.de/elektro/hff/wirkungen.html/printversion>. (Datum des Zugriffs: 18. Dezember 2006).

Bundesamt für Strahlenschutz (2007). Endbericht – in vivo-Experimente unter Exposition mit hochfrequenten elektromagnetischen Feldern der Mobilfunkkommunikation. http://www.emf-forschungsprogramm.de/home/forschung/biologie/biologie_abges/bio_050_AB.pdf. (Datum des Zugriffs: 20. März 2008).

Bundesamt für Strahlenschutz (2008). Langzeitstudie an Labornagern mit UMTS-Signalen. http://www.emf-forschungsprogramm.de/forschung/biologie/biologie_abges/bio_125.html. (Datum des Zugriffs: 18. September 2008).

Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (2007a). Mobilfunk und Arbeitsschutz. Regelungen und Grenzwerte am Arbeitsplatz. <http://www.bmwi.de/BMWi/Navigation/Wirtschaft/Telekommunikation-und-Post/mobilfunk,did=187990.html>. (Datum des Zugriffs: 27. Mai 2007).

Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (2007b). Verordnung über das Nachweisverfahren zur Begrenzung elektromagnetischer Felder. <http://www.bmwi.de/BMWi/Navigation/Service/gesetze,did=24160.html>. (Datum des Zugriffs: 27. Mai 2007).

Bundesregierung (2005). Tierschutzbericht. http://www.bmelv.de/nn_753634/SharedDocs/downloads/07-SchutzderTiere/Tierschutzbericht/2005,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/2005.pdf. (Datum des Zugriffs: 28. Juni 2007).

Bushong, D, Friend, T, Knabe, D (2000). Salivary and plasma cortisol response to adrenocorticotropin administration in pigs. *Lab Anim* 34: 171-181.

Cano, P, Cardinali, D, Spinedi, E, Esquifino (2008). Effect of aging on 24-hour pattern of stress hormones and leptin in rats. *Life Sci* 83: 142-148.

Car, B, Eng, V, Everds, N, Bounous, D (2006). Clinical pathology of the rat. In: Suckow, M, Weisbroth, S, Franklin, C (Hrsg.). *The laboratory rat*. Elsevier Academic Press, Burlington, USA. ISBN 978-0-12-074903-4.

Carlberg, K, Gwosdow, A, Alvin B (1995). Effects of anesthesia with halothane and methoxyflurane on plasma-corticosterone concentration in rats at rest and after exercise. *Lab Anim Sci* 45: 584-587.

Carobrez, S, Gasparotto, O, Buwalda, B, Bohus, B (2002). Long-term consequences of social stress on corticosterone and IL-1 β levels in endotoxin-challenged rats. *Physiol Behav* 76: 99-105.

Carrasco, G, Van de Kar, L (2003). Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 463: 235-272.

Cavigelli, S, Guhad, F, Ceballos, R, Whetzel, C, Nevalainen, T, Lang, C, Klein, L (2006). Fecal corticoid metabolites in aged male and female rats after husbandry-related disturbances in the colony room. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 45: 17-21.

Cavigelli, S, Monfort, S, Whitney, T, Mechref, Y, Novotny, M, McClintock, M (2005). Frequent serial fecal corticoid measures from rats reflect circadian and ovarian corticosterone rhythms. *J Endocrinol* 184: 153-163.

Chou, C., Guy, A, Kunz, L, Johnson, R, Crowley, J, Krupp, J (1992). Long-term, low-level microwave irradiation of rats. *Bioelectromagnetics* 13: 469-496.

Cocchetto, D, Bjornsson, T (1983). Methods of vascular access and collection of body fluids from the laboratory rat. *J Pharm Sci* 72: 465-492.

Cohen, S, Tyrell, D, Smith, A (1991). Physiological stress and susceptibility to the common cold. *N Engl J Med* 325: 606-612.

De Boer, S, Koopmans, S, Slangen, J, Van der Gugten (1990). Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated stress in rats: effect of interstressor interval length. *Physiol Behav* 47: 1117-1124.

De Seze, R, Fabbro-Peray, P, Miro, L (1998). GSM Radiocellular telephones do not disturb the secretion of antipituitary hormones in humans. *Bioelectromagnetics* 19: 271-278.

Deckardt, K, Weber, I, Kaspers, U, Hellwig, J, Tennekes, H, van Ravenzwaay, B (2007). The effects of inhalation anaesthetics on common clinical pathology parameters in laboratory rats. Food Chem Toxicol 45: 1709-1718.

Diehl, KH, Hull, R, Morton, D, Pfister, R , Rabemampianina, Y, Smith, D, Vidal, JM, van de Vorstenbosch, C (2001). A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. J Appl Toxicol 21: 15–23.

Djeridane, Y, Touitou, Y, Seze, R (2008). Influence of electromagnetic fields emitted by GSM-900 cellular telephones on the circadian patterns of gonadal, adrenal und pituitary hormones in men. Radiat Res 169: 337-343.

Duke, J, Zammit, T, Lawson, D (2001). The effects of routine cage-changing on cardiovascular and behavioral parameters in male Sprague-Dawley rats. Contemp Top Lab Anim Sci 40: 17-20.

Durney, C, Massoudi, H, Iskander, M (1985). Radiofrequency radiation dosimetry handbook. RU.S.Air Force School of Aerospace, Medical Division, Brooks Air Force Base, Texas. Reg. No. SAM-TR-85-73.

Eder, H, Kiefer, J, Luggen-Hölscher, J, Rase, S (1986). Grundzüge der Strahlenkunde für Naturwissenschaftler und Veterinärmediziner. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. ISBN 3-489-57116-9.

Eriksson, E, Royo, F, Lyberg, K, Carlsson, HE, Hau, J (2004). Effect of metabolic cage housing on immunoglobuline A und corticosterone excretion in faeces and urine of young male rats. Exp Physiol 89: 427-433.

Fekedulegn, D, Andrew, M, Burchfiel, C, Violanti, J, Hartley, T, Charles, L, Miller, D (2007). Area under the curve and other summary indicators of repeated wakening cortisol measurements. Psychosom Med 69: 651-659.

Fenwick, D, Blackshaw, J (1989). Carbon dioxide as a short-term restraint anaesthetic in rats with subclinical respiratory disease. Lab Anim 23: 220-228.

Fitzner, T, Petersen M, Dragsted, N, Hansen, A (2006). The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. Lab Anim 40: 261-274.

Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (2007a). Elektromagnetische Felder und Strahlen. <http://emf-portal.de/lfu.php?l=g&detail=7>. Datum des Zugriffs: 27. Mai 2007).

Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (2007b). Frequenzspektrum elektromagnetischer Felder. <http://www.emf-portal.org/lfu.php?l=g&detail=8#headline>. (Datum des Zugriffs: 30. Juni 2007).

Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (2007c). Technisch erzeugte hochfrequente elektromagnetische Felder. <http://www.emf-portal.org/lfu.php?l=g&detail=17#headline>. (Datum des Zugriffs: 30. Juni 2007).

Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (2007d). Regelungen in Deutschland. <http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g&detail=280#headline>. (Datum des Zugriffs: 30. Juni 2007).

Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (2007e). Empfehlungen in der Europäischen Union. <http://emf-portal.de/lfu.php?l=e&detail=278>. (Datum des Zugriffs: 30. Juni 2007).

Forschungszentrum für Elektro-Magnetische Umweltverträglichkeit (2007f). Mobilfunk. <http://www.emf-portal.de/lfu.php?l=g&detail=19#headline>. (Datum des Zugriffs: 30. Juni 2007).

Fraser, T, Turner, S, Mangos, G, Ludbrook, J, Whitworth, J (2001). Comparison of telemetric and tail-cuff blood pressure monitoring in adrenocorticotrophic hormone-treated rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 28: 831-835.

Fukasawa, M, Tsukada, H, Kosako, T, Yamada, A (2008). Effect of lactation stage, season and parity on milk cortisol concentration in Holstein cows. Liv Sci 113: 280-284.

Gallant, S (1979). Serum levels of corticosterone and 18-hydroxy-11-deoxycorticosterone in the female rat at the high and low points of the circadian rhythm. Steroids 33: 183-195.

Gärtner, K, Büttner, D, Döhler, K, Friedel, R, Lindena, J, Trautschold, I (1980). Stress response in rats to handling and experimental procedures. Lab Anim 14: 267-274.

Gesellschaft für Versuchstierkunde (1999). Empfehlung zur Blutentnahme bei Versuchstieren, insbesondere kleinen Versuchstieren. <http://www.tierschutz-tvt.de/merkblastt74.pdf>. (Datum des Zugriffs: 12. März 2008).

Ghizzoni, L, Bernasconi, S, Viridis, R, Vottero, A, Ziveri, M, Volta, C, Lughetti, L, Giovannelli, G (1994). Dynamics of 24-hour pulsatile cortisol, 17-Hydroxyprogesterone, and Androstenedione release in prepubertal patients with nonclassic 21-Hydroxylase deficiency and normal prepubertal children. Metabolism 43: 372-377.

Gliddon, C, Darlington C, Smith, P (2003). Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis following vestibular deafferentation in pigmented guinea pig. Brain Res 964: 306-310.

González-Gil, A, Silván, G, García-Partida, P, Illera, J (2006). Serum glucocorticoid concentrations after halothane and isoflurane anaesthesia in New Zealand white rabbits. Vet Rec 159: 21-52.

Haemisch, A, Guerra, G, Furkert, J (1999). Adaption of corticosterone-but not β -endorphin-secretion to repeated blood sampling in rats. Lab Anim 33: 185-191.

Haller, R (1969). Experimentelle Nebennierenrindenbutungen an antikoagulierten Ratten, ausgelöst durch Stimulation der Nebennierenrinde. Virchows Arch A Pathol Pathol Anat 346: 204-211.

Harms, V (1998). Physik für Mediziner und Pharmazeuten. Harms Verlag, Kiel. ISBN 3-86026-062-6.

Harten, H-U, Nägerl, H, Schmidt, J, Schulte H-D (1999). Physik für Mediziner. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. ISBN 3-540-65028-8.

Heiderstadt, K, McLaughlin, R, Wright, D, Walker, S, Gomez-Sanchez, E (2000). The effect of chronic food and water restriction on open-field behaviour and serum corticosterone levels in rats. Lab Anim 34: 20-28.

Hesketh, S, Leggett, J, Jassop, D (2007). Chronic citalopram treatment does not sensitize the adrenal gland to ACTH (1-24) in rats. J Psychopharmacol 21: 885-887.

Hinson, J, Renshaw, D, Carroll, M, Kapas, S (2001). Regulation of rat adrenal vasoactive intestinal peptide content: effects of adrenocorticotrophic hormone treatment and changes in dietary sodium intake. J Neuroendocrinol 13: 769-773.

Hocking, B, Gordon, I, Grain, M, Hatfield, G (1996). Cancer incidence and mortality and proximity to TV towers. Med J Australia 165: 601-605.

Horn, B (1977). Explosiveness of ether. JAMA 238: 1631.

Hoy, P, Adolph, E (1956). Diuresis in response to hypoxia and epinephrine in infant rats. Am J Physiol 187: 32-40.

Ishikawa, M, Hara, C, Ohdo, S, Ogawa, N (1992). Plasma corticosterone response of rats with sociopsychological stress in the communication box. Physiol Behav 52: 475-480.

Ishikawa, M, Ohdo, S, Watanabe, H, Hara, C, Ogawa, N (1995). Alteration in circadian rhythm of plasma corticosterone in rats following sociopsychological stress induced by communication box. *Physiol Behav* 57: 41-47.

Issa, A, Rowe, W, Gauthier, S, Meaney, M (1990). Hypothalamic-pituitary-adrenal activity in aged, cognitively unimpaired rats. *J Neurosci* 10: 3247-3254.

Janzen, N, Sander, S, Terhardt, M, Peter, M, Sander, J (2000). Fast and direct quantification of adrenal steroids by tandem mass spectrometry in serum and dried blood spots. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 861: 117-122.

Jung, W (1979). Strahlung. In: Jung, W (Hrsg.). *Fischer Kolleg, Das Abitur-Wissen Physik*. Fischer Taschenbuch Verlag GmbH, Frankfurt am Main, 345-351. ISBN 3-596-24512-5.

Kahlfeld, C (2009). Untersuchungen zum Einfluss einer chronischen Exposition in hochfrequenten elektromagnetischen Feldern von zwei Mobilfunkstandards (GSM und UMTS) auf die humoralen Immunantwort von Ratten (*Rattus norvegicus*) Diss. vet. med., Universität München.

Källén, B, Malmquist, G, Moritz, U (1982). Delivery outcome among physiotherapists in Sweden: Is non-ionizing radiation a fetal hazard?. *Arch Environ Health* 37: 81-85.

Kamphuis, P, Bakker, J, Broekhoven, M, Kunne, C, Croiset, G, Lentjes, E, Tilders, F, Van Bel, F, Wiegant, V (2002). Enhanced glucocorticoid feedback inhibition of hypothalamo-pituitary-adrenal responses to stress in adult rats neonatally treated with dexamethason. *Neuroendocrinology* 76: 158-169.

Kant, G, Lenox, R, Bunnell, B, Mougey, E, Pennington, L, Meyerhoff, J (1983). Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology* 8: 421-428.

Kato, M, Honma, K, Shigemitsu, T, Shiga, Y (1993). Effects of exposure to a circularly polarized 50-Hz magnetic field on serum and pineal melatonin levels in rats. *Bioelectromagnetics* 14: 97-106.

Kauffmann, G, Moser, E, Sauer, R (2006). Radiologie. Urban und Fischer Verlag, München, Jena. ISBN 3-437-44415-8.

Keay, J, Singh, J, Gaunt, M, Kaur, T (2006). Fecal glucocorticoids and their metabolites as indicators of stress in various mammalian species: a literature review. *J Zoo Wildl Med* 37: 234-244.

Keeney, A, Jassop, D, Harbuz, M, Marsden, C, Hogg, S, Blackburn-Munro (2006). Differential effects of acute and chronic social defeat stress on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and hippocampal serotonin release in mice. *J Neuroendocrinol* 18: 330-338.

Koolhaas, J, Baumans, V, Blom, H, Von Holst, D, Timmermans, P, Wiepkema, R (1995). Verhalten, Stress und Wohlbefinden. In: Van Zutphen, L, Baumans, V, Beynen, A (Hrsg.). *Grundlagen der Versuchstierkunde*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 71-92.

Kraft, W (2005). Klinische Endokrinologie. In: Kraft, W, Dürr, U (Hrsg.). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. Schattauer GmbH, Stuttgart, 297-321. ISBN 3-7945-2308-3.

Kurien, B, Everds, N, Scofield, R (2004). Experimental animal urine collection: a review. *Lab Anim* 38: 333–361.

Lai H, Carino M, Horita A, Guy A (1990). Corticotropin-releasing factor antagonist blocks microwave-induced decreases in high-affinity choline uptake in the rat brain. *Brain Res. Bull.* 25: 609-612.

Lai, H, Singh, N (1995). Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 16: 207-210.

Lai, H, Singh, N (1996). Single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int J Radiat Biol* 69: 513-521.

Larsen, A, Olsen, J, Svane, O (1991). Gender-specific reproductive outcome and exposure to high-frequency electromagnetic radiation among physiotherapists. *Scand J Work Environ Health* 17: 324-329.

Leal, A, Forsling, M, Moreira, A (1995). Diurnal variation of the pituitary-adrenal and AVP responses to stress in rats under food restriction. *Life Sci* 56: 191-198.

Lepschy, M, Touma, C, Hruby R, Palme, R (2007). Non-invasive measurement of adrenocortical activity in male and female rats. *Lab Anim* 41: 372-387.

Lightman, S, Wiles C, Atkinson, H, Henley,D, Russell, G, Leendertz, J, McKenna, M, Spiga, F, Wood,S, Conway-Campbell, B (2008). The significance of glucocorticoid pulsatility. *Eur J Pharmacol* 583: 255-262.

Ling, S, Jamali, F (2003). Effects of cannulation surgery and restraint stress on the plasma corticosterone concentration in the rat: application of an improved corticosterone hplc assay. *J Pharma Pharma Sci* 6: 246-251.

Löffler, G (1998a). Der Citratcyclus. In: Löffler, G, Petrides, P (Hrsg.). *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 813-854. ISBN 3-540-64350-8.

Löffler, G (1998b). Stoffwechsel der Lipide. In: Löffler, G, Petrides, P (Hrsg.). *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 813-854. ISBN 3-540-64350-8.

Lupien, S, McEwen, B (1997). The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain Res Rev* 24: 1-27.

Magin, R, Liburdy, R, Persson, B (1992). Biological effects and safety aspects of nuclear magnetic resonance imaging and spectroscopy. *Ann N Y Acad Sci* 649:1-398.

Mahl, A, Heining P, Ulrich, P, Jakubowski J, Bobadilla, M, Zeller, W, Bergmann, R, Singer, T, Meister, L (2000). Comparison of clinical pathology parameters with two different blood sampling techniques in rats: retrobulbar plexus versus sublingual vein. *Lab Anim* 34: 351-361.

Mann K, Röschke J, Connemann B und Beta H (1998a). No effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on heart rate variability during human sleep. *Pharmacoelectroencephalography* 38: 251-256.

Mann, K, Röschke, J (1996). Effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on human sleep. *Neuropsychobiology* 33: 41-47.

Mann, K, Wagner, P, Brunn, G, Hassan, F, Hiemke, C, Röschke, J (1998b). Effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on the neuroendocrine system. *Neuroendocrinology* 67: 139-144.

Márquez, C, Nadal, R, Armario, A (2004). The hypothalamic-pituitary-adrenal and glucose responses to daily repeated immobilisation stress in rats: individual differences. *Neuroscience* 123: 601-612.

Marti, O, Armario, A (1998). Anterior pituitary response to stress: time-related changes and adaptation. *Int J Dev Neurosci* 16: 241-260.

Millsbaugh, J, Washburn, B (2003). Within-sample variations of fecal glucocorticoid measurements. *Gen Comp Endocrinol* 132: 21-26.

Mormedé, P, Andanson, S, Aupérin, B, Beerda, B, Guémené, D, Malmkvist, J, Manteca, X, Manteuffel, G, Prunet, P, Reenen, C, Richard, S, Veissier, I (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav* 92: 317-339.

Morton, D, Abbot, D, Barclay, R, Close, B, Ewbank, R, Gask, D, Heath, M, Mattic, S, Poole, T, Seamer, J, Southee, J, Thompson, A, Trussell, B, West C, Jennings (1993). Removal of blood from laboratory mammals and birds. Lab Anim 27: 1-22.

Möstl, E (2000). Spezielle Endokrinologie. In: Engelhardt, W, Breves, G (Hrsg.). Physiologie der Haustiere. Enke Verlag, Stuttgart, 497-514. ISBN 3-7773-1429-3.

Möstl, E, Palme, R (2002). Hormones as indicators of stress. Domest Anim Endocrinol 23: 67-74.

Munck, A, Guyre P, Holbrook, N (1984). Physiological functions of glucocorticoids and their reaction to pharmacological actions. Endocr Rev 5: 25-44.

Natelson, B, Creighton, D, McCarthy, R, Tapp,W, Pitman, D, Ottenweller, J (1987). Adrenal hormonal indices of stress in laboratory rats. Physiol Behav 39: 117-125.

Natelson, B,Tapp, W, Adamus, J, Mittler, J, Levin, B (1981). Humoral indices of stress in rats. Physiol Behav 26: 1049-1054.

Negraõ, J, Porcionato, M, De Passillé, A, Rushen, J (2004). Cortisol in saliva und plasma of cattle after ACTH administration and milking. J Dairy Sci 87: 1712-1718.

Nicholson, S, Lin, J, Mahmoud, S, Campell, E, Gillham, B, Jones, M (1985). Diurnal variations in responsiveness of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat. Neuroendocrinology 40: 217-224.

Oka,K, Noguchi, N, Kltamura, T, Shims, S (1987). Liquid chromatography and radioimmunoassay compared for determination of cortisol and corticosterone in plasma after a dexamethasone suppression test. Clin Chem 33: 1639-1642.

Ouellet-Hellstrom, R, Stewart, W (1993). Miscarriages among female physical therapists, who report using radio- and microwave-frequency electromagnetic radiation. Am J Epidemiol 138:775-786.

Palme, R, Rettenbacher, S, Touma, C, El-Bahr, S, Möstl, E (2005). Stress hormones in mammals and birds. *Ann N Y Acad Sci* 1040: 162-171.

Panagiotaropoulos, T, Papaioannou, A, Pondiki, S, Prokopiou, A, Stylianopoulou, F, Gerozissis, K (2004). Effect of neonatal handling and sex on basal and chronic stress-induced corticosterone and leptin secretion. *Neuroendocrinology* 79: 109-118.

Pellegrini, A, Grieco, M, Materazzi, G, Gesi, M, Ricciardi, M (1998). Stress-induced morphohistochemical and functional changes in rat adrenal cortex, testis and major salivary glands. *Histochem J* 30: 695-701.

Petrides, P (1998). Endokrine Gewebe III. In: Löffler, G, Petrides, P (Hrsg.). *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 813-854. ISBN 3-540-64350-8.

Pihl, L, Hau, J (2003). Faecal corticosterone and immunoglobuline A in young adult rats *Lab Anim* 37: 166-171.

Prélaud, P, Rosenberg, D, De Fornel-Thibaud, P (2005). *Endokrinologische Diagnostik in der Kleintierpraxis*. Schlüterscher Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG, Hannover. ISBN 3-89993-014-2.

Pruessner, J, Kirschbaum, C, Meinlschmid, G, Hellhammer, D (2003). Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrinology* 28: 916-931.

Radon, K, Parera, D, Rose, D, Jung, D, Vollrath, L (2001). No effects of pulsed radio frequency electromagnetic fields on melatonin, cortisol, and selected markers of the immune system in man. *Bioelectromagnetics* 22: 280-287.

Raff, H, Jacobson, L, Cullinan, W (2007). Augmented Hypothalamic Corticotrophin-Releasing Hormone mRNA and corticosterone responses to stress in adult rats exposed to perinatal hypoxia. *J Neuroendocrinol* 19: 907-912.

Raff, H, Lee, J, Widmaier, E, Oaks, M, Engeland, W (2004). Basal and adrenocorticotropin-stimulated corticosterone in the neonatal rat exposed to hypoxia from birth: modulation by chemical sympathectomy. *Endocrinology* 145: 79-86.

Redbo, I (1993). Stereotypies and cortisol secretion in heifers subjected to tethering. *Appl Anim Behav Sci* 38: 213-225.

Reiter, R, Richardson, B (1992). Magnetic fields effects on pineal indoleamine metabolism and possible biological consequences. *FASEB J* 6: 2283-2287.

Repacholi, M (2001). Health risks from the use of mobile phones. *Toxicol Lett* 120: 323-331.

Retana-Márquez, S, Bonilla-Jaime, H, Vázquez-Palacios, G, Dominguez-Salazar, E, Martínez-García, R, Velázquez-Moctezuma, J (2004). Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes in response to acute and chronic stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 28: 207-27.

Robia, C (1998). Bestimmung der Konzentration von Kortisolmetaboliten im Kot von Wiederkäuern als Parameter für die Kortisolkonzentration im Blut. Diss. med. vet., Universität Wien.

Röösli, M, Rapp, R, Braun-Fahrlander, C (2003). Hochfrequente Strahlung und Gesundheit-eine Literaturanalyse. *Gesundheitswesen* 65: 387-392.

Röschke J, Mann K (1997). No short-term effects of digital mobile radio telephone on the awake human electroencephalogram. *Bioelectromagnetics* 18: 172-176.

Royo, F, Björk, N, Carlsson, H-E, Mayo, S, Hau, J (2004). Impact of chronic catheterization and automated blood sampling (Accusampler) on serum

corticosterone and fecal immunoreactive corticosterone metabolites and immunoglobulin A in males rats. J Endocrinol 180: 145-153.

Sage, D, Maurel, D, Bosler, O (2002). Corticosterone-dependent driving influence of the suprachiasmatic nucleus on adrenal sensitivity to ACTH. Am J Physiol Endocrinol Metab 282: 458-465.

Sarkar, S, Ali, S, Behari, J (1994). Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. Mutation Res 320:141-147.

Scaccianoce, S, Di Sciullo, A, Angelucci, L (1990). Age-related changes in hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis activity in the rat. In vitro studies. Neuroendocrinology 52: 150-155.

Scaccianoce, S, Nicolai, R, Cigliana, G, Angelucci, L (1995). Reduced glucocorticoid response to corticotropin secretagogues in the aged Sprague-Dawley rat. Neuroendocrinology 62: 32-38.

Seckl, J, Olsson, T (1995). Glucocorticoid hypersecretion and the age impaired hippocampus: cause or effect. J Endocrinol 145: 201-211.

Seibt, W (1996). Physik für Mediziner. Chapman & Hall GmbH, Weinheim. ISBN 3-8261-0049-2.

Selye (1976). Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. Can Med Assoc J 115:53-56.

Sharp, P, La Regina, M (1998). The laboratory rat. CRC Press. ISBN 0-8492-2565-X.

Shellock, F, Crues, J (1987). Temperature, heart rate, and blood pressure changes associated with clinical MR imaging at 1.5 T. Radiology 163: 259-262.

Sonntag, W, Goliszek, A, Brodish, A, Eldridge, J (1987). Diminished diurnal secretion of adrenocorticotropin (ACTH), but not corticosterone, in old male rats:

possible relation to increased adrenal sensitivity to ACTH in vivo. *Endocrinology* 120: 2308-2315.

Starkman, M, Gabarsky, S, Berent, S, Schteingart, D (1992). Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biol Psychiatry* 32: 756-765.

Stefanski, V (2000). Social stress in laboratory rats: hormonal responses and immune cell distribution. *Psychoneuroendocrinology* 25: 389-406.

Stepansky, R, Jahn, O, Windischbauer, G, Zeitlhofer, J (2000). Elektromagnetische Felder-Auswirkungen auf die Gesundheit. *Acta Med Austriaca* 3: 69-77.

Stryer, L (1999). Biochemie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford. ISBN 3-86025-346-8.

Takahashi, L, Turner, J, Kalin, N (1998). Prolonged stress-induced elevation in plasma corticosterone during pregnancy in the rat: implications of prenatal stress studies. *Psychoneuroendocrinology* 23: 571-581.

Tausk, M (1979). Pharmakologie der Hormone. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. ISBN 3-13-463603-4.

Teshima, D, Maiguma, T, Kaji, H, Otsubo, K, Kitagawa, N, Okabe, Y, Sugitani, A, Tanaka, M, Oishi, R (2008). Estimation of the area under the curve for mycophalonic acid in adult renal transplant patients with concomitant tacrolimus using a limited sampling strategy. *J Clin Pharm Ther* 33: 159-163.

Thrivikrama, K, Huot, R, Plotsky, P (2002). Jugular vein catheterization für repeated blood sampling in the unrestrained conscious rat. *Brain Res Brain Res Protoc* 10: 84-94.

Trautwein, A, Kreibitz, U, Oberhausen, E, Hüttermann, J (2004). Physik für Mediziner, Biologen, Pharmazeuten. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin. ISBN 3-11-017839-7.

Tuli, J, Smith, J, Morton, D (1995). Stress measurements in mice after transportation. Lab Anim 29: 132-138.

Tyrell, J, Aron, D, ForSHAM, P (1994). Glucocorticoids and adrenal androgens. In: Greenspan, F, Baxter, J (Hrsg.). Basic & Clinical Endocrinology. Appleton & Lange, Connecticut, USA, 307-342. ISBN 0-8385-0646-1.

Vahl, T, Ulrich-Lai, Y, Ostrander, M, Dolgas, C, Elfers, E, Seeley, R, D'Alessio, D, Herman, J (2005). Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab 289: 823-828.

Van de Kar, L, Blair, M (1999). Forbrain pathway mediating stress-induced hormone secretion. Front Neuroendocrinol 20: 1-48.

Von Borell, E, Ladewig, J (1986). Möglichkeiten der Erfassung von chronischen Belastungsreaktionen beim Schwein mit Hilfe von Nebennierenrinden-Funktionsprüfungen und ethologischen Merkmalen. In: KTBL (Hrsg.). Aktuelle Arbeiten zur artgemäßen Tierhaltung. KTBL-Schrift 311: 30-36. ISBN 3-7843-1754-5.

Weiss J, Maeß J, Nebendahl K (2003). Haus- und Versuchstierpflege. Enke Verlag, Stuttgart. ISBN 3-8304-1009-3.

Wenzel, C, Schönreiter-Fischer, S, Unshelm, J (2003). Studies on step-kicking behavior and stress of cows during milking in an automatic milking system. Livest Prod Sci 83: 237-246.

Wenzel, C, Wöhr, C, Unshelm J (2002). Das Verhalten von Milchrindern unter dem Einfluss elektromagnetischer Felder. Prakt. Tierarzt 83: 260-265.

Windle, R, Wood, S, Lightman, S, Ingram, C (1988). The pulsatile characteristics of hypothalamo-pituitary-adrenal activity in female Lewis and Fischer 344 rats and its relationship to differential stress responses. *Endocrinology* 139: 4044-4052.

Wolfensohn, S, Lloyd, M (1998). Handbook of laboratory animal management and welfare. Blackwell Wissenschafts-Verlag GmbH, Berlin. ISBN 0-632-05052-7.

Yellon, S (1994). Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. *J Pineal Res* 16: 136-144.

Gesetzliche Grundlagen und Empfehlungen

Berufsgenossenschaft der Feinmechanik und Elektrotechnik (2001). Unfallverhütungsvorschrift Elektromagnetische Felder BGV B11. http://www.bgfe.de/bilder/pdf/bgv_b11_a03-2002.pdf. (Datum des Zugriffs: 26. Mai 2007).

Bundes-Immissionsschutzgesetz (BImSchG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 26. September 2002 (BGBl. I S. 3830).

Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit und Bundesamt für Strahlenschutz (1999). Richtlinien für die Begrenzung der Exposition durch zeitlich veränderliche elektrische, magnetische und elektromagnetische Felder (bis 300 GHz). <http://www.icnirp.de/documents/emfgdlger.pdf>. (Datum des Zugriffs: 4. Juli 2007).

Bundesregierung (2005). Tierschutzbericht. http://www.bmelv.de/nr_753634/SharedDocs/downloads/07-SchutzderTiere/Tierschutzberichte/2005,templateId=raw,property=publicationFile.pdf/2005.pdf. (Datum des Zugriffs: 28. Juni 2007).

Europäisches Übereinkommen vom 18. März 1986 zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere (Gesetz vom 11. Dezember 1990 (BGBl. II, S. 1486 ff.)). <http://www.uni-hohenheim.de/~hoerner/kschb/europa.htm#Tabelle>. (Datum des Zugriffs: 5. März 2007).

International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) (1998). Guidelines for limiting exposure to time varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). Health Phys. 74 (4): 494-522. <http://www.icnirp.de/documents/emfgdl.pdf>. (Datum des Zugriffs: 5. März 2007).

Sechszwanzigste Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (Sechszwanzigste Bundes-Immissionsschutz Verordnung (26. BImSchV) in der Fassung vom 16. Dezember 1996 (BGBl. I S. 1966)).

Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313). <http://bundesrecht.juris.de/bundesrecht/tierschg/gesamt.pdf>. (Datum des Zugriffs: 18. Dezember 2006).

Verordnung über das Nachweisverfahren zur Begrenzung elektromagnetischer Felder vom 20. August 2002 (BGBl. I, S.3366), geändert durch: Artikel 3 Absatz 20 des Gesetzes vom 7. Juli 2005 (BGBl. I, S.1970).

Verordnung über die Meldung zu Versuchszwecken oder zu bestimmten anderen Zwecken verwendeter Wirbeltiere (Versuchstiermeldeverordnung (VersTierMeldV) vom 4. November 1999 (BGBl. I S. 2156), geändert durch: Artikel 420 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407)).

Verzeichnis der benutzten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
°C	Grad Celsius
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
g	Fallbeschleunigung
g	Gramm
GSM	Global System for Mobile Communications
h	Stunden
m	männlich
MEZ	Mitteleuropäische Zeit
MW	Mittelwert
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
n	Anzahl
ng	Nanogramm
p	Wahrscheinlichkeit
ppm	pars per million
r	Korrelationskoeffizient
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler
SHAM	Scheinexposition (englisch: Schein-, Täuschung)
Tab.	Tabelle
TMB	Tetramethylbenzin
UMTS	Universal Mobile Telecommunications System
µl	Mikroliter
w	weiblich
z. B.	zum Beispiel

Curriculum Vitae

Persönliche Daten:

Name: Schreiner, Judith Theresa Friederike
Geburtsdatum: 4.12.1979
Geburtsort: Burglengenfeld
Familienstand: ledig, keine Kinder
Eltern: Schreiner, Helmut (Rechtsanwalt)
Schreiner, Judith (Angestellte)

Beruflicher Werdegang:

seit 01.04.2007: Assistenzärztin in der Tierärztlichen Klinik Nürnberg Dr. Kaspar,
Dr. Lechner, TÄ Meusel und Dr. Pfeifer

05.2005-04.2007: Assistenzärztin in der Kleintierpraxis Dr. Ranzinger in Regensburg

Hochschulausbildung und Promotionsstudium:

02.2005-2007: Doktorandin am Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde und
Hygiene und Tierhaltung der Ludwig-Maximilians-Universität
München
10.02.2005: Erteilung der Approbation durch die Regierung von Oberbayern
20.01.2005: Abschluss des Studiums mit Bestehen des III. Teils der
tierärztlichen Prüfung (Endnote: 1,77)
1999-2005: Studium der Tiermedizin an der LMU München

Schulbildung:

1990-1999: Johann-Michael-Fischer-Gymnasium in Burglengenfeld
Abschluss: Abitur
1986-1990: Geschwister-Scholl-Schule (Grundschule) in Burglengenfeld

Danksagung

Ein großer Dank gilt dem Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit und dem Bundesamt für Strahlenschutz, in dessen Auftrag diese Dissertation erstellt wurde.

Herrn Prof. Dr. M. H. Erhard danke ich für die Überlassung des Themas, die Endkorrektur der Dissertation und für die Bewilligung des großzügigen finanziellen Rahmens der Arbeit.

Bei Frau Dr. C. Wöhr möchte ich mich für die freundliche Unterstützung bei der Planung und Durchführung des Projektes, für die Korrektur der Arbeit und für die stets sehr gute Betreuung bedanken.

Frau Dr. C. Engmann möchte ich für die großartige Hilfe bei der Planung und Durchführung des Projektes, für die Korrektur der Arbeit und für Rat und Tat zu jeder Tages- und Nachtzeit danken.

Meinen beiden Doktorandinnen-Kollegen, Janine Schneider und Catrin Kahlfeld, möchte ich für die stets sehr gute und angenehme Zusammenarbeit, anregende Diskussionen und für ihre unerschöpfliche Hilfe bei der Verwirklichung dieser Doktorarbeit danken.

Bei Frau Dr. J. Henke (Klinikum rechts der Isar, Abteilung für Experimentelle Chirurgie, TU München) möchte ich mich für die freundlichen Unterweisungen und die guten Ratschläge bei allen Fragen zur Anästhesie bedanken.

Den Mitarbeitern des Lehrstuhles für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene möchte ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre und die große Hilfsbereitschaft danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Privatdozenten H. Küchenhoff und Frau A. Ossig des statistischen Beratungslabors der LMU München und Herrn Dr. F. Ahrens vom

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene der LMU München für die unerschöpfliche Geduld und die Mühen bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Ein ganz besonders herzlicher Dank gilt Frau Christine Kroh, die bei der Vermittlung und Unterbringung unserer Labortiere phantastische Arbeit geleistet hat und durch ihr aufopferndes Engagement gewährleistet hat, dass unseren Labortieren ein angenehmer Lebensabend zugesichert werden konnte. Gleichzeitig möchte ich mich an dieser Stelle natürlich auch bei denjenigen bedanken, die unseren pelzigen Freunden ein neues Zuhause geschenkt haben.

Ein weiterer herzlicher Dank gilt meiner Tante M. Geiger und meinem Onkel F. Geiger für die aufmunternden und antreibenden Worte, die kulinarische Verpflegung und dafür, sich immer zu Hause fühlen zu können. I. Wollny und S. Ostermeier möchte ich für ganz besondere Freundschaften und ein unermüdliches Anspornen danken.

Bei meinem Bruder A. Schreiner möchte ich mich für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken und für die Hilfe bei allen computertechnischen Angelegenheiten. Ebenso danken möchte ich meiner australischen Freundin H. Harper für die Korrektur der englischen Zusammenfassung, M. Hähner für seine Geduld und das Bereitstellen seines Laptops und J. Geißendörfer für seine Bemühungen um lateinische und griechische Spruchweisheiten und seine Ermutigungen.

Meinem Freund A. Spitzer gilt ein besonderer Dank für seine ausdauernde Geduld bis zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Der abschließende und größte Dank gilt meinem Vater, ohne dessen Unterstützung die Durchführung dieser Arbeit nie möglich gewesen wäre und der mich zu jeder Zeit bestens unterstützt hat.